

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTRATÉGIAS DE EXTRAÇÃO EM QUÍMICA: SUBSTÂNCIAS
HÚMICAS EM SOLOS E COBRE EM CACHAÇA**

ANDREA PINTO DE OLIVEIRA*

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS (Área de Concentração: QUÍMICA ANALÍTICA).

*Bolsista CAPES

ORIENTADOR: Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega

São Carlos – SP

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

O48ee

Oliveira, Andrea Pinto de.

Estratégias de extração em química : substâncias
húmicas em solos e cobre em cachaça / Andrea Pinto de
Oliveira. -- São Carlos : UFSCar, 2009.
136 f.

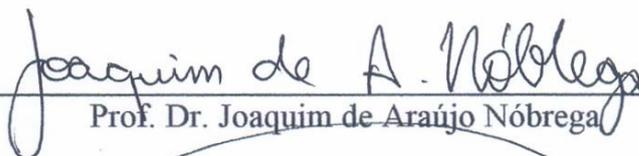
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2009.

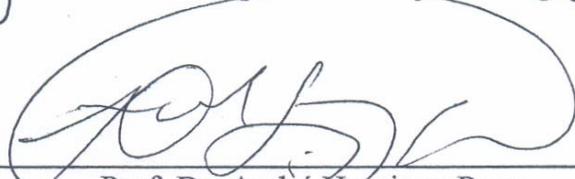
1. Substâncias húmicas. 2. Ácido húmico. 3. Matéria
orgânica. 4. Solos. 5. Cachaça. I. Título.

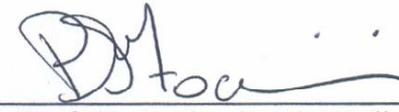
CDD: 543.08712 (20^a)

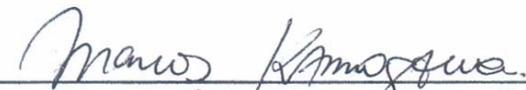
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

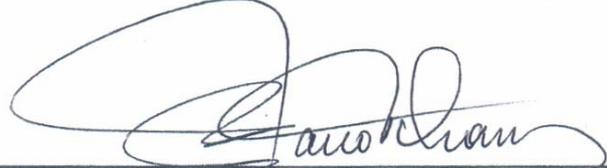
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado da candidata **Andrea Pinto de Oliveira**, realizada em 22 de janeiro de 2009:*


Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega


Prof. Dr. André Henrique Rosa


Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini


Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa


Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

*Ao meu marido Ronaldo pela compreensão, renúncias e
companheirismo ao longo de vários anos juntos. A minha pequena e
amada Isabella, que tanto me encoraja a encarar os desafios da vida
que não são poucos...*

Dedico

Ao “Dudu”

Ao professor e querido mestre Eduardo, o Tio Dudu, como gostava de ser chamado por seus alunos e alunas, as quais as meninas eram denominadas de “Duduzets”. Tive o prazer de conhecer e conviver com o professor Eduardo durante 8 anos, o contato com o professor Dudu era diário, pois ele estava em uma fase de sua carreira acadêmica mais tranqüila. Já estava aposentado, e, portanto não ministrava aulas para a graduação, aulas somente para a pós-graduação e total dedicação ao pessoal do laboratório. Lembro-me que em muitas conversas de bancada, aprendia-se muita química e também ensinamentos que certamente irei carregar por toda a vida. Era uma pessoa de contar muitas histórias engraçadas e o seu “jeitinho de fala mansa” e andar tranqüilo certamente deixa muitas saudades. Mas é uma saudade boa, gostosa de ser lembrada, saudades de um amigo que fiz aqui em São Carlos e que nunca, jamais me esquecerei. Um químico do Rio de Janeiro redigiu uma nota sobre o professor Eduardo na qual, em minha opinião, realmente expressa a pessoa que ele era, publicada na revista Química Nova 29, 2006, com os seguintes dizeres: “O Eduardo era daquelas pessoas tranqüilas, acima das emoções imediatas, de grande sabedoria. Sem polemizar deixava claros seus pontos de vista, e sabia ouvir. Era sempre muito interessante estar numa roda onde ele se encontrava, pois se tinha a certeza de aprender alguma coisa, de modo delicado e carinhoso”.

Professor Eduardo, agradeço por todos os ensinamentos tanto profissionais como pessoais recebidos ao longo desses anos de convivência, e também agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de conhecer uma pessoa maravilhosa, considerado por mim meu pai científico.

*As lembranças constroem um caminho que chega até o coração e faz
com que os amigos sempre se sintam perto, mesmo que em realidade
estejam muito longe um do outro.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pela orientação, atenção, compreensão, amizade e sábios ensinamentos a mim dispensados durante o decorrer desse trabalho. Agradeço também por ter me dado a oportunidade de fazer parte do GAIA, grupo que me acolheu com muito carinho e afeto.

A todos os meus amigos do GAIA: Adriana, Amália, Bia, Caio, Carla, Catarina, Dani, Eveline, Fernanda, Juliana (Jú), Kelber, Marcelo, Mário, Marquinho, Renata, Silmara, Sílvia, Silvéria e Wladiana meus sinceros agradecimentos, vocês não imaginam o quanto a atitude de cada um de vocês foi importante para mim em uma fase difícil por qual passei. Obrigada a todos.

Aos meus amigos de laboratório: Elen, Estela, Mariele, Osmundo, Quézia, Tiago e Vagner pela agradável e descontraída convivência do dia-a-dia.

Ao Prof. Dr. Antônio Mozeto por ceder gentilmente a máquina de centrifugar para que pudesse realizar os experimentos de extração das substâncias húmicas em solos.

Aos professores de Química Analítica pelos ensinamentos, amizade e atenção durante 10 anos de convivência aqui na UFSCar.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade de desenvolver o trabalho de doutorado.

Às secretárias da pós-graduação: Ariane, Cristina e Luciane pela total atenção e também pela amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES pela bolsa concedida.

...Nunca digo adeus a ninguém. Nunca deixo que as pessoas mais próximas se vão. Eu as levo comigo onde quer que eu vá...

Ame muitas coisas, porque em amar está a verdadeira força.

Quem ama muito conquistará muito, e o que for feito com

amor estará bem feito. (Vincent Van Gogh)

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	xii
Lista de Tabelas.....	xv
Lista de Abreviaturas.....	xvii
Resumo.....	xviii
Abstract.....	xx

CAPÍTULO 1 – Desenvolvimento de Método para a Extração das Substâncias Húmicas, HS, em Solos e Desenvolvimento de Método para a Caracterização dos Grupamentos Funcionais da Macromolécula Húmica. Modificações no Método Walkley-Black para a Determinação da MO em Diversas Amostras.

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	01
1.1.2 PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO CONVENCIONAL E EXTRATORES EMPREGADOS PARA O ISOLAMENTO DAS HS PRESENTES EM SOLOS.....	04
1.1.2.1 Outros Métodos para a Extração das HS em Solos.....	15
1.1.3 ESTRUTURA PROPOSTA PARA AS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.....	19
1.1.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS HS.....	22
1.1.4.1 Análise de Grupamentos Funcionais.....	22
1.1.5 DETERMINAÇÃO DE CARBONO E MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS.....	26
1.1.6 OBJETIVO DO ESTUDO.....	31

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	32
1.2.2 CALIBRAÇÃO DOS INSTRUMENTOS VOLUMÉTRICOS.....	32
1.2.3 CENTRÍFUGA.....	32
1.2.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	32
1.2.4.1 Solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹	32

1.2.4.2 Solução Ácida Mista contendo HCl 0,02 mol L ⁻¹ , LiCl 0,16 mol L ⁻¹ e KCl 0,32 mol L ⁻¹ em $\mu = 0,50$ mol L ⁻¹	32
1.2.4.3 Solução Básica Mista contendo KOH 0,02 mol L ⁻¹ , KCl ₃ CCOO 0,06 mol L ⁻¹ e KCl 0,42 mol L ⁻¹ em $\mu = 0,50$ mol L ⁻¹	33
1.2.4.4 Solução Padrão de NaOH 0,10 mol L ⁻¹	33
1.2.4.5 Solução Padrão de Dicromato de Potássio, K ₂ Cr ₂ O ₇ 0,2500-0,3300 mol L ⁻¹	33
1.2.4.6 Solução Padrão de Sulfato Ferroso, FeSO ₄ .7H ₂ O 0,7500 mol L ⁻¹	34
1.2.4.7 Solução Padrão de Hidrogenoftalato de Potássio, HOCOC ₆ H ₄ COOK 0,03000 mol L ⁻¹	34
1.2.5 COLETA E SECAGEM DO SOLO TURFA.....	34
1.2.5.1 AMOSTRA DE ÁCIDO HÚMICO.....	35
1.2.5.2 AMOSTRA DE VERMICOMPOSTO.....	35
1.2.6 INSTRUMENTAÇÃO.....	35
1.2.6.1 Medidas Potenciométricas.....	35
1.2.6.2 Medidas Condutométricas.....	36
1.2.7 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	36
1.2.7.1 Procedimento para Determinação do Teor de Umidade e Teor de Cinzas para a amostra de Solo Turfa.....	36
1.2.7.2 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.....	37
1.2.7.2.1 Método Padrão Sugerido pela IHSS.....	37
1.2.7.2.2 Purificação do HA, segundo método sugerido pela IHSS.....	37
1.2.7.2.3 Método Proposto para Extração das HS em Solos.....	38
1.2.7.2.4 Procedimento Proposto para a Purificação das Amostras de HA.....	39
1.2.8 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÁCIDOS HÚMICOS.....	40
1.2.8.1 Procedimento para a Determinação do Teor de Cinzas em Amostras de HA.....	40
1.2.8.2. Análise Elementar.....	40
1.2.8.3 Análise de Infravermelho com Transformada de Fourier, FT-IR.....	40

1.2.8.4 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, ^{13}C NMR.....	40
1.2.8.5 Análise por Espectrofotometria UV-Visível, Razão E_4/E_6	41
1.2.9 Procedimento para a Calibração do Eletrodo de Vidro em Força Iônica Constante Ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$	41
1.2.9.1 Titulações Potenciométricas de HA em Força Iônica Ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$	42
1.2.9.2 Titulação Condutométrica de Ácido Húmico.....	43
1.3. Determinação do Número de Elétrons Experimental, Z_e	43
1.3.1 Determinação da Matéria Orgânica em Diversas Amostras.....	44
1.3.2 Procedimento para Remoção de Íons Nitrato, presentes em H_2SO_4 98% (m/m).....	45

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1. ANÁLISE DE AMOSTRA DE SOLO TURFA.....	46
1.4.2 MÉTODO PROPOSTO PARA A EXTRAÇÃO DAS HS EM SOLOS TURFA.....	47
1.4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HA OBTIDOS PELO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DA IHSS E PELO MÉTODO DE EXTRAÇÃO PROPOSTO.....	50
1.4.3.1 Análise Elementar e Teor de Cinzas.....	50
1.4.3.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho, FT-IR.....	54
1.4.3.3 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, ^{13}C -NMR.....	58
1.4.3.4 Análise por Espectrofotometria de UV-Visível, Razão E_4/E_6	62
1.4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO PARA A EXTRAÇÃO DAS HS EM OUTROS SOLOS.....	63
1.4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE HA.....	65
1.4.5.1 Teor de Cinzas e Matéria Orgânica.....	65
1.4.5.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho, FT-IR.....	65
1.4.5.3 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, ^{13}C -NMR.....	67

1.4.6 Determinação dos Valores de pK's Correspondentes a cada Grupamento Ácido Titulável em amostras de HA em Força Iônica Ajustada para 0,50 mol L ⁻¹	68
1.4.6.1 Calibração do Eletrodo de Vidro em Força Iônica Ajustada para 0,50 mol L ⁻¹	69
1.4.6.2 Titulação Potenciométrica de Ácido Cítrico e Ácido Fosfórico....	70
1.4.6.2.1 Balanços de Massa Envolvidos no Uso do Programa Complex5.....	73
1.4.6.3 Titulação Potenciométrica das Amostras de HA.....	79
1.4.7 Determinação do Número de Elétrons Experimental, Ze.....	87
1.4.7.1 Determinação da Matéria Orgânica em Diversas Amostras.....	94
1.5 CONCLUSÕES.....	98
1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
CAPÍTULO 2 - Eliminação de Íons Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Destiladas por Troca-Iônica com Carbonatos Sólidos de Cálcio e Magnésio	
2.1 INTRODUÇÃO.....	117
2.1.2 OBJETIVO DO ESTUDO.....	121
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	
2.2.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	122
2.2.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	122
2.2.2.1 Solução Padrão de Cobre(II).....	122
2.2.2.2 Soluções Padrão de Cobre(II) para o Teste Semi-Quantitativo em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas.....	122
2.2.3 AMOSTRAS DE CACHAÇA.....	123
2.2.4 INSTRUMENTAÇÃO.....	123
2.2.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	123
2.2.5.1 Teste Semi-Quantitativo para o Teor de Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas.....	123

2.2.5.2 Procedimento para a Eliminação de Íons Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas.....	124
2.2.5.3 Estimativa das Constantes de Troca-Iônica em Meio Contendo 40% de Etanol/Água (v/v).....	124
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	126
2.4 CONCLUSÕES.....	131
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 Método de extração sugerido pela IHSS.....	07
Figura 1.2 Modelo de estrutura para o HA proposto por Schulten & Schnitzer, 1995.....	20
Figura 1.3 Variação do pH em função do tempo frente às adições de extratores alcalinos a) Na_2CO_3 $0,050 \text{ mol L}^{-1}$, b) NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, na razão solo/extrator 1:10 m/v.....	49
Figura 1.4 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método sugerido pela IHSS.....	55
Figura 1.5 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto empregando soluções de (Na_2CO_3 + NaOH).....	56
Figura 1.6 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA/método proposto purificado sem aquecimento.....	57
Figura 1.7 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA/método proposto purificado com aquecimento.....	57
Figura 1.8 Espectros de ^{13}C -NMR para amostras de HA método IHSS e método proposto purificado com aquecimento.....	59
Figura 1.9 Espectros de absorção molecular na região de 450-700 nm para as amostras: HA/método IHSS e HA/método proposto.....	62
Figura 2.0 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto aplicado ao solo turfa.....	66
Figura 2.1 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto aplicado ao solo PZA.....	66
Figura 2.2 Espectros de ^{13}C -NMR para amostras de HA aplicando-se o método proposto ao solo PZA e ao solo turfa.....	67
Figura 2.3 (a) Curvas de calibração para o eletrodo de vidro em força iônica ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em meio ácido, empregando solução eletrolítica mista contendo HCl $0,02018 \text{ mol L}^{-1}$ / LiCl $0,1604 \text{ mol L}^{-1}$ / KCl $0,32 \text{ mol L}^{-1}$ e em meio alcalino empregando solução eletrolítica mista contendo KOH $0,02013 \text{ mol L}^{-1}$ / Cl_3CCOOK $0,06002 \text{ mol L}^{-1}$ / KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Onde, $Z = [\text{H}^+]$ ou $[\text{OH}^-]$. (b) Curva de	

Calibração para o eletrodo de vidro em força iônica ajustada para 0,50 mol L ⁻¹ com solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ na região ácida e alcalina.....	69
Figura 2.4 Fórmula estrutural do ácido cítrico.....	71
Figura 2.5 Curvas potenciométricas, pH vs volume da solução titulante de NaOH 0,2060 mol L ⁻¹ adicionado em: (a) 19,76 mL de solução de 0,05 mol L ⁻¹ de ácido cítrico e (b) 19,76 mL de solução de 0,05 mol L ⁻¹ de ácido fosfórico, ambas as titulações realizadas em força iônica constante, ajustada com solução 0,50 mol L ⁻¹ de NaCl.....	72
Figura 2.6 Curvas potenciométricas derivativas para as titulações realizadas em força iônica constante, ajustada com solução de 0,50 mol L ⁻¹ NaCl: (a) ácido cítrico e (b) ácido fosfórico; ambos titulados com solução de NaOH 0,2060 mol L ⁻¹	73
Figura 2.7 Curvas potenciométricas referentes à titulação da mistura de ácido cítrico e fosfórico em força iônica constante, ajustada com solução 0,50 mol L ⁻¹ de NaCl. (a) curva potenciométrica, pH vs volume de NaOH 0,2036 mol L ⁻¹ ; (b) curva potenciométrica derivativa em relação ao gráfico (a); e (c) curva potenciométrica derivativa em região ampliada de 7 a 22 mL do volume de NaOH 0,2036 mol L ⁻¹ adicionado.....	77
Figura 2.8 Curva potenciométrica obtida para a titulação de 51 mg HA/IHSS, disperso em 49,96 mL de solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ . Titulante: KOH 0,02013 mol L ⁻¹ /Cl ₃ CCOOK 0,06002 mol L ⁻¹ /KCl 0,42 mol L ⁻¹	80
Figura 2.9 Curva potenciométrica derivativa para a titulação de 51 mg de HA/IHSS, disperso em 49,96 mL de solução de KCl 0,50 mol L ⁻¹ . Titulante: KOH 0,02013 mol L ⁻¹ /Cl ₃ CCOOK 0,06002 mol L ⁻¹ /KCl 0,42 mol L ⁻¹	81
Figura 3.0 Curva potenciométrica para a titulação de 51 mg de HA/IHSS disperso em 49,96 mL de solução KCl 0,50 mol L ⁻¹ . Titulante: KOH 0,02013 mol L ⁻¹ /Cl ₃ CCOOK 0,06002 mol L ⁻¹ /KCl 0,42 mol L ⁻¹	82
Figura 3.1 Curva potenciométrica para a titulação de 51 mg de HA/método proposto disperso em 49,96 mL de solução KCl 0,50 mol L ⁻¹ . Titulante: KOH 0,02013 mol L ⁻¹ /Cl ₃ CCOOK 0,06002 mol L ⁻¹ /KCl 0,42 mol L ⁻¹	84
Figura 3.2 Titulação condutométrica das amostras de HA (a) 101 mg de HA/IHSS e (b) 101 mg de HA/método proposto, empregando solução de NaOH 0,04494 mol L ⁻¹	86

Figura 3.3 Valores médios experimentais para Ze vs volumes crescentes de H_2SO_4 98% m/m adicionados a um volume fixo de solução aquosa de 12,00 mL contendo 6,00 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,2785 \text{ mol L}^{-1}$ + 6,00 mL de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$ 89

Figura 3.4 Curvas potenciométricas obtidas empregando o método de Walkley-Black modificado para a determinação do valor de Ze em solução padrão de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$, empregando H_2SO_4 98% m/m não tratado.....90

Figura 3.5 Curvas potenciométricas empregando-se o método de Walkley-Black modificado para a determinação do Ze em solução padrão de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$ empregando H_2SO_4 98% m/m tratado.....91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Métodos de extração convencional e extratores empregados na remoção das HS em solos.....	15
Tabela 1.2 Outros métodos empregados na extração das HS em solos.....	19
Tabela 1.3 Grupamentos funcionais presentes na estrutura das HS.....	21
Tabela 1.4 Valores médios para a composição elementar das HS de solos....	21
Tabela 1.5 Análise Elementar para o Solo Turfa.....	46
Tabela 1.6 Análise elementar e razões atômicas para amostras de HA (teor médio \pm desvio padrão, n=2).....	51
Tabela 1.7 Determinação do teor de cinzas (material inorgânico) para as amostras de HA.....	52
Tabela 1.8 Determinação do teor de cinzas após processo de purificação para as amostra de HA/método proposto.....	53
Tabela 1.9 Intensidades Relativas (% da área total) das bandas nos espectros de ^{13}C -NMR para a amostra de HA/método IHSS e HA/método proposto purificado com aquecimento (teor médio \pm desvio padrão, n=3).....	60
Tabela 2.0 Valores percentuais de alifaticidade e aromaticidade para as amostras de HA obtidas por diferentes métodos de extração.....	60
Tabela 2.1 Teor de HA extraído pelo método proposto aplicado aos solos.....	64
Tabela 2.2 Determinação do teor de MO e teor de cinzas (material inorgânico) encontrado nas amostras de HA.....	65
Tabela 2.3 Teores percentuais de alifaticidade e aromaticidade para as amostras de HA.....	67
Tabela 2.4 Valores estimados de K_a' , pK_a' e valor de pK_a encontrado na literatura para o ácido fosfórico e cítrico.....	75
Tabela 2.5 Valores de pK_a' estimados em titulação potenciométrica do ácido cítrico e fosfórico titulados separadamente, da mistura dos ácidos fosfórico e cítrico e valores de pK_a para esses ácidos encontrados em literatura.....	78
Tabela 2.6 Reanálise do sistema considerando uma 4 ^o ionização para o ácido cítrico, levando a um sistema de 7 incógnitas na mistura dos dois ácidos. Comparação entre os valores de pK separados e em mistura com os valores da literatura.....	79

Tabela 2.7 Valores de pK's referentes a cada grupamento ácido titulado na amostra de HA/IHSS, calculado pelo programa Complex5.....	83
Tabela 2.8 Valores de pK's referentes a cada grupamento ácido titulado na amostra de HA/método proposto, calculado pelo programa Complex5.....	85
Tabela 2.9 Valores experimentais para o número de elétrons experimental, Ze, empregando a proporção 1:1 solução aquosa:volume ácido.....	92
Tabela 3.0 Teores de MO empregando o método Walkley-Black convencional e o método Walkley-Black modificado (teor médio \pm desvio padrão, n =2).....	95
Tabela 3.1 Teores de MO pelo método de Walkey-Black convencional, empregando o Ze como branco da titulação, e pelo método de Walkley-Black modificado (teor médio \pm desvio padrão, n =2).....	96

Capítulo 2

Tabela 2.1 Determinação da concentração de cobre(II) (mg L^{-1}) em amostras de cachaça antes e após tratamento com carbonatos sólidos, quantificados por FAAS.....	127
Tabela 2.2 Valores de pH em amostras de cachaça antes e após tratamento com carbonatos sólidos, após diluição 1:10 (v/v).....	128

LISTA DE ABREVIATURAS

FA	Ácidos Fúlvicos
HA	Ácidos Húmicos
DQO	Demanda Química de Oxigênio
^{13}C -NMR	Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C
CPMAS	Polarização Cruzada com Rotação em torno do Ângulo Mágico
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTA	Análise Térmica Diferencial
EPR	Ressonância Paramagnética Eletrônica
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama
FNB	Food Nutritional Board
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
ICP-OES	Epectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado
IHSS	International Humic Substances Society
MIBK	Metil-isobutilcetona
MO	Matéria Orgânica
MOS	Matéria Orgânica do Solo
PMI	Perda de Massa por Ignição
pK'	Constante de Dissociação Condicional
pK'_w	Produto Iônico da Água Condicional
PTFE	Politetrafluoretileno
PZA	Solo de Pedra Azul
SAM	Método das Adições de Padrão
HS	Substâncias Húmicas
TG	Termogravimetria
TL	Espectroscopia de Luminescência Total
TOC	Carbono Orgânico Total
XAD-4	Estirenodivinilbenzeno
XAD-8	[(poli)-metilmetacrilato]
μ	Força-iônica

Estratégias de Extração em Química: Substâncias Húmicas em Solos e Cobre em Cachaça

RESUMO

As estratégias de extração propostas nesta tese foram elaboradas buscando obter o produto final de forma eficiente, confiável e demandando um tempo relativamente curto de processamento. Os métodos desenvolvidos são de baixo custo e também de fácil aplicabilidade para o estudo de diversas amostras. A primeira estratégia proposta foi a extração das substâncias húmicas, HS, em amostras de solo tipo turfa visando desenvolver uma estratégia mais eficiente e menos laboriosa que o método padrão adotado pela IHSS. Assim, solos tipo turfa foram tratados com soluções alcalinas de NaOH e Na₂CO₃, seguindo-se etapas de purificação e secagem do ácido húmico, AH. Outros fatores experimentais foram avaliados buscando obter um produto final com mínimas alterações em sua estrutura original, pois sabe-se que a estrutura molecular das HS e suas propriedades físico-químicas dependem fortemente de como essas substâncias foram extraídas do solo. Como decorrência desse estudo, sugeriu-se também um método para a detecção dos grupamentos funcionais ácidos na estrutura das HS. Neste estudo empregou-se uma solução com força iônica elevada e constante, titulando-se potenciométricamente as amostras de HA com uma solução alcalina. Dessa forma, promoveu-se uma maior dissociação dos grupos ácidos. Assim, as constantes de dissociação condicionais, pK's, correspondentes aos grupos ácidos podem ser estimadas empregando para tal propósito programas computacionais previamente desenvolvidos. Algumas modificações foram realizadas no método convencional proposto por Walkley-Black para a determinação do teor de MO em solos buscando uma completa oxidação da MO presente nos diversos tipos de amostras analisadas. Uma outra estratégia de extração desenvolvida foi a remoção de íons cobre(II) em amostras de cachaça empregando carbonatos sólidos de cálcio e/ou magnésio. A eficiência do método decorre do processo de troca-iônica entre o metal e a fase sólida de carbonato e também por fenômenos de adsorção na fase sólida. Demonstrou-se que a remoção de íons

cobre(II) foi quantitativa principalmente para amostras de cachaça recém-destiladas

Extraction in Chemistry: Humic Substances in Soils and Copper in Cachaça

ABSTRACT

The goal of the extraction strategies here developed was to obtain final products with efficiency and reliability in a time interval as short as possible. The proposed methods are inexpensive and easily applied for different samples. The first extraction strategy proposed deals with humic substances, HS, removal in peat soils aiming the development of an extraction method for organic matter, OM, more efficient and less laborious than the extraction method recommended by IHSS. Alkaline solutions, such as NaOH and Na₂CO₃, were tested for extracting HS from peat soils followed by purification and drying steps of humic acid, HA. The effect of other experimental variables was investigated aiming to decrease changes in HA molecular structure. It is well known that both molecular structure and physico-chemical properties are critically dependent on the extraction procedure applied for HA in soils. It was also suggested a method for the characterization of functional groups in the HS molecular structure. This study was based on potentiometric titrations carried out at elevated and constant ionic strengths. The conditional dissociation constants, pK's, correspondent to each titrated acidic group were estimated employing tailored computer programs. Some modifications were performed in the conventional Walkley-Black method for the determination of OM content in soils to reach a complete oxidation process. An other extraction strategy developed was the removal of copper(II) ions in cachaça samples employing solid of calcium and magnesium carbonates. The efficiency of this method comes from the ionic exchange between the metal ion and the solid phase of carbonate and also by adsorption phenomena on this solid phase. It was demonstrated that quantitative removal of copper(II) can be reached in a short time mainly for recently distilled cachaça samples.

Capítulo 1

**Desenvolvimento de Método para a
Extração de Substâncias Húmicas, HS,
em Solos e Desenvolvimento de Método
para a Caracterização dos Grupamentos
Funcionais da Macromolécula Húmica.
Modificações no Método Walkley-Black para
a Determinação da MO em Diversas
Amostras**

1.1.1 Considerações Gerais

Substâncias húmicas, HS são convencionalmente definidas como substâncias de coloração escura, macromolecular, obtidas a partir da lenta decomposição, tanto química como microbiológica, de materiais de origem vegetal e/ou animal; ou ainda podem ser consideradas substâncias orgânicas heterogêneas de natureza biogênica e refratária¹⁻³. As HS exercem importante função tanto no ambiente aquático como terrestre devido a sua habilidade em interagir com vários componentes presentes no meio ambiente, atraindo dessa forma a atenção de pesquisadores nessa área. Apesar de muitos estudos realizados com as HS resultando em inúmeros trabalhos que vêm continuamente sendo publicados, tanto a sua estrutura como a sua função no meio ambiente ainda são pouco compreendidas. Contudo, para um melhor entendimento em relação às suas características físico-químicas e estrutura molecular, o método para a extração dessas substâncias é de fundamental importância.

A escolha de um método adequado de extração/isolamento das HS presentes em solos é um constante desafio para os pesquisadores dessa área³⁻⁶. Diferentes métodos de isolamento das HS podem levar a diferentes interpretações em relação às suas características físico-químicas⁷.

Devido à vasta heterogeneidade das HS, métodos analíticos vêm sendo desenvolvidos e refinados a fim de melhor analisá-las, empregando neste caso várias técnicas analíticas, como infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), ressonância magnética nuclear (NMR), ressonância paramagnética eletrônica (EPR), entre outras, para um compreensivo entendimento de sua estrutura molecular. Muitos métodos vêm sendo propostos na literatura para a extração das HS em solos na tentativa de esclarecer suas propriedades complexas e sua estrutura⁸, entretanto, ainda não há um único método ou um conjunto de métodos analíticos que possam proporcionar dados para uma caracterização absoluta das HS.

O extrator ideal deve remover completamente as HS presentes no solo sem promover mudanças em sua estrutura, podendo ser empregado para qualquer tipo de solo, água ou sedimento³. Além disso, o extrator não deve ser tóxico tanto ao ser humano como também ao meio ambiente e deve ser de

baixo custo. Infelizmente tal extrator não existe, contudo um grande número de diferentes tipos de extratores vem sendo empregado, sempre no intuito de se promover mínimas mudanças na estrutura molecular das HS,

Inúmeras definições das HS têm sido propostas ao longo do tempo. Uma definição mais abrangente considera que as HS são biopolímeros altamente funcionalizados, ricos em carbono, que estão “ancorados” na matéria orgânica, MO de turfas, solos e sedimentos por ligações metálicas; são consideradas as “esponjas da terra” funcionando como tampão e devido sua coloração escura, retêm calor, gerando um ambiente favorável para a germinação de sementes. São compostos amorfos, materiais fractais, cujas estruturas têm sido modeladas ao longo dos séculos^{9,10}.

Recentemente o conceito de associação supramolecular das HS introduzido por Piccolo *et al.*¹¹ empregando métodos espectroscópicos, microscópicos, entre outros, indicou que ao invés das HS serem consideradas biopolímeros de alta massa molar, elas são na realidade associações de moléculas relativamente pequenas e heterogêneas. Essas moléculas são provenientes da degradação e decomposição de material biológico morto e se organizam em uma conformação supramolecular. Essas pequenas moléculas não estão associadas entre si por ligações covalentes, mas encontram-se estabilizadas por meio de interações hidrofóbicas (interações do tipo van der Waals, π - π e CH- π), como também ligações por ponte de hidrogênio. Nesse modelo de organização supramolecular, forças intermoleculares não somente determinam a estrutura conformacional das HS, como também controlam complexas interações múltiplas não covalentes dessas substâncias com o ambiente ao seu redor, controlando, portanto sua reatividade ambiental. Um corolário para esse modelo é o conceito de estrutura micelar, isto é, o arranjo dessas moléculas orgânicas em soluções aquosas, apresentando regiões hidrofóbicas orientadas para o interior da molécula e regiões hidrofílicas expostas ao meio aquoso. Outras características básicas das HS juntamente com suas propriedades e reações foram descritas por Stevenson³ e também por outros artigos e revisões relevantes ao tema^{1,2,12,13}. Entretanto, essas e outras definições propostas para as HS pouco esclarecem a natureza química desse material húmico. Considerando-se que todas as definições propostas para as HS não são totalmente satisfatórias, é comum defini-las também em

termos dos métodos usados para extrai-las ou isolá-las de solos, águas ou sedimentos. A clássica extração das HS em solos gera três principais frações da MO: 1) ácidos húmicos (HA); 2) ácidos fúlvicos (FA) e 3) humina. Essas frações são definidas operacionalmente em termos de sua solubilidade em meio aquoso como função do pH da solução extratora. Por exemplo, o HA é a fração das HS que não é solúvel em água sob condições ácidas, mas torna-se solúvel em valores elevados de pH. O FA é a fração da MO solúvel em meio aquoso em qualquer intervalo de pH. A humina, que consiste de um agregado de materiais húmicos e não húmicos,¹⁴ representa a fração da MO que não é solúvel em meio aquoso em qualquer intervalo de pH. De fato, HA e FA são os mais abundantes componentes da matéria orgânica do solo, MOS, geralmente em solos tipo turfa. Compreendem polieletrólitos de composição estruturalmente heterogênea, com intervalos de massas molares variando de algumas centenas, até milhões de unidades de massa atômica e consistem de estruturas aromáticas e alifáticas associadas à grupamentos funcionais, tais como carboxilas, álcoois, fenóis, hidroxilas, carbonilas, aminas, amidas, entre outros. Devido à presença de grupamentos funcionais de caráter ácido na estrutura molecular do AH e AF, esses influenciam diretamente na capacidade tamponante do solo, como também na biodisponibilidade e no comportamento físico-químico de macro e micro-nutrientes, íons metálicos potencialmente tóxicos e substâncias xenobióticas¹⁵⁻¹⁸.

Dessa forma, é importante uma adequada escolha do método de extração ou isolamento das HS presentes no solo, pois as condições experimentais utilizadas afetarão aspectos estruturais e propriedades. Assim, descreve-se a seguir uma breve revisão sobre os diferentes processos de extração da MO partindo-se do emprego de métodos de extração convencionais até os métodos de extração mais recentes propostos na literatura.

1.1.2 Procedimentos de Extração Convencional e Extratores Empregados para o Isolamento das HS Presentes em Solos

É importante mencionar que as definições propostas para as HS estão baseadas nas frações da MOS e, portanto, estão baseadas na forma em que os procedimentos de isolamento e fracionamento foram realizados. Como supracitado a definição das diferentes frações das HS está baseada nas características de solubilidade em meio aquoso, portanto pode-se optar por isolar essas frações da MO a fim de melhor caracterizá-las.

As HS geralmente são extraídas de amostras de solo ou sedimentos por adição ao substrato de uma solução alcalina após ter realizado um pré-tratamento da amostra com ácido mineral diluído, comumente HCl^{3,19}. O aumento da solubilidade da MO em presença de uma solução extratora alcalina ocorre devido à repulsão eletrostática entre as cargas negativas presentes nos grupamentos funcionais ácidos das HS. Assim, os grupamentos funcionais são dissociados no valor de pH da solução básica extratora que geralmente está em torno de 11-13, promovendo sua solvatação. Dessa forma, pode-se concluir que a solubilidade das HS é fortemente dependente do pH, da força-iônica do meio reacional e também da natureza do eletrólito empregado como agente extrator. A quantidade de MO extraída com a solução alcalina é dependente do tempo de extração, podendo ocorrer uma ligeira solvatação de complexos de alta massa molar contidos no solo. Geralmente esses complexos estão presentes na fração da humina, associados a sesquióxidos e silicatos. De fato, o tempo necessário para a extração das HS depende do grau de humificação da MO, como também das características do material inorgânico presente no solo³. Nesse processo HA e FA são co-extraídos para a fase aquosa, sendo que a fração insolúvel em meio alcalino contém a humina. Quando o extrato alcalino é acidificado por adição de um ácido forte, como o HCl por exemplo, a fração da MO precipitada é o HA e a fração que se mantém solúvel nesse extrato acidificado é o FA³. Outras etapas devem ser realizadas a fim de se obter o HA e o FA purificados, ou seja, livre de contaminantes inorgânicos que são co-extraídos juntamente com esses ácidos, reduzindo o teor de cinzas nessas substâncias.

Apesar da grande capacidade de extração da solução alcalina, é possível identificar algumas desvantagens associadas ao seu uso. Verificou-se que, em condições alcalinas, podem ocorrer modificações na estrutura molecular das HS pela possibilidade de ocorrência de reações de auto-oxidação e condensação entre os grupos nitrogenados dos aminoácidos e os grupamentos carboxílicos. Aldeídos aromáticos e compostos do tipo quinona também podem sofrer processos de condensação. Uma forma amplamente adotada para a redução dos riscos de ocorrência de reações de auto-oxidação consiste em realizar a extração da MO sob atmosfera de nitrogênio. A troca da atmosfera ambiente oxidante por uma inerte diminui a possibilidade de reação com o O₂ dissolvido na solução. Geralmente, o borbulhamento de gás N₂ na solução alcalina durante aproximadamente 15 min é suficiente para reduzir a concentração de O₂ dissolvido na solução extratora²⁰. A Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas, IHSS,²¹ sugere um procedimento de extração padrão das HS do solo baseado no tratamento com 0,5 ou 0,1 mol L⁻¹ de solução de NaOH durante um período de extração mínimo de 4 h a temperatura ambiente sob atmosfera de N₂.

Bremmer²² realizou um estudo analisando o consumo de oxigênio em diferentes extrações de HS em solos e verificou um aumento do oxigênio consumido com a elevação do pH e o tempo de extração. Segundo Swift & Posner²³ a quebra de ligações na molécula de HA sob condições alcalinas é extremamente influenciada pela presença de oxigênio. Além disso, o oxigênio pode elevar também o estado de oxidação e a capacidade de troca de cátions na molécula de HA. Entretanto Tan *et al.*²⁴ não observaram efeitos significativos referente ao uso da atmosfera inerte sobre as características espectroscópicas de HA. Por meio de espectros de ¹³C-NMR obtidos no estado sólido de HA isolados em atmosfera livre e em atmosfera inerte (N₂) verificaram que as mudanças não são evidentes. Esses resultados estão de acordo com Krosshaavn *et al.*²⁵ que, empregando também a técnica de ¹³C-NMR, não observaram mudanças significativas na estrutura das HS extraídas em ambas as atmosferas de trabalho. Contudo, Rosa *et al.*²⁶ empregando análise térmica diferencial (DTA) e análise termogravimétrica (TG) verificaram que o simples contato da MO presente no solo com uma base forte (extrator alcalino), causou alterações na estrutura original da MOS, indicando a necessidade do

desenvolvimento de métodos e/ou procedimentos analíticos que permitam estudar as propriedades da MO sem que se necessite de uma etapa de extração. Ou seja, estudar as HS *in situ* levará a resultados mais reais na compreensão dos complexos processos ambientais que as envolvem. Outro aspecto relacionado à extração alcalina, refere-se a dissolução de sílica presente no material silicatado do solo o qual representa um contaminante na fração de HS, elevando o teor de cinzas de HA e FA extraídos. Pode ocorrer também a dissolução de outros compostos de estrutura definida como biopolímeros de tecidos vegetais frescos e sua incorporação ao material humificado. Dessa forma, as HS extraídas com soluções alcalinas geralmente compreendem uma combinação de materiais nativos, não alterados extraídos do solo. Contudo apesar de algumas desvantagens aqui mencionadas associadas ao uso de soluções alcalinas como agente extrator, essas soluções ainda são muito empregadas na etapa de extração. De fato, um grande número de métodos para a extração das HS presentes no solo empregando soluções alcalinas têm sido publicados²⁷⁻³¹.

A Figura 1.0 representa um fluxograma do método sugerido pela IHSS para a extração das HS presentes nos solos. Deve ser claramente discutido aqui que, esse método não é um método aprovado ou que deve ser recomendado como um método padrão para a extração da MO, mas sim um método que tem sido bastante satisfatório na extração das HS em diferentes tipos de solos podendo ser utilizado em muitos laboratórios. Esse método geralmente extrai grandes quantidades de MO (altos rendimentos de extração) podendo ser empregado como um método padrão para fins de comparação de resultados obtidos entre diferentes laboratórios.

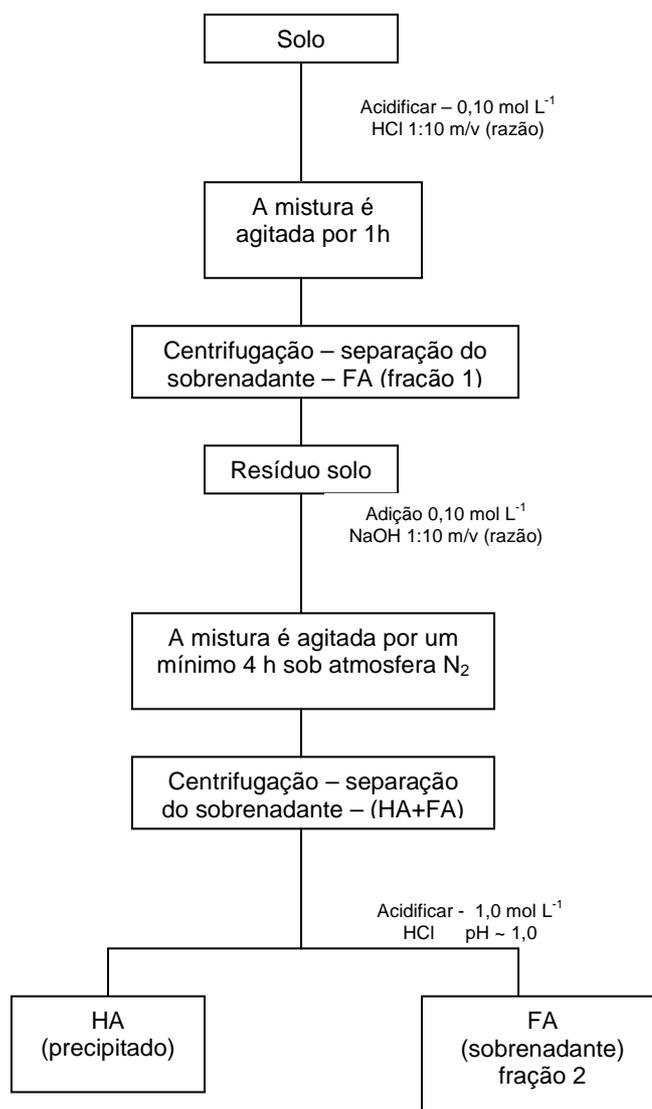


Figura 1.1 Método de extração sugerido pela IHSS²¹.

O procedimento utilizado para purificar o HA extraído pelo método sugerido pela IHSS emprega uma mistura ácida contendo 0,1 mol L⁻¹ HCl/0,3 mol L⁻¹ HF com a finalidade de remover possíveis colóides inorgânicos finamente divididos que possam estar presentes junto ao HA e assim obter menores teores de cinzas³². Caso necessário, esse tratamento empregando a mistura ácida deverá ser repetido até se obter um teor de cinzas inferior a 1%. Dando continuidade a essa etapa de purificação, as amostras de HA são também dialisadas contra água corrente, atentando-se que nessa etapa podem ocorrer perdas significativas do material húmico. Clapp & Hayes³³; Clapp *et al.*³⁴ e Hayes *et al.*³⁵, verificaram que ao invés de se empregar nas etapa de purificação tanto a mistura ácida como a diálise, as amostras de HA foram

filtradas empregando, nesse caso, filtros de porosidade entre 0,45 e 0,2 μm levando a baixos valores do teor de cinzas para as frações das HS e também este procedimento evitou possível degradação do material húmico, o que supostamente ocorre quando solução de HCl/HF é utilizada. Seguindo-se o procedimento, as HS passam por uma etapa de secagem que pode ser feita tanto por uma evaporação convencional ou por liofilização. Na etapa de secagem algumas mudanças químicas podem ocorrer, como por exemplo, formação de anidridos e lactonas e/ou perda de dióxido de carbono, particularmente quando essas substâncias são secas sob temperaturas elevadas, ou seja, temperaturas superiores a 60 °C.

Há inúmeras variantes referentes ao método de extração proposto pela IHSS incluindo: a natureza e a concentração do extrator empregado; a temperatura em que a extração das HS é efetuada; tempo de contato do solo com a solução alcalina; etapas de purificação das frações das HS a fim de se obter baixos valores do teor de cinzas e a escolha da condição aeróbica ou anaeróbica na etapa de extração. Numerosos extratores têm sido empregados, como NaOH, Na_2CO_3 , $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, NaF, sais de ácidos orgânicos; e geralmente a escolha de qual agente extrator utilizar depende do tipo de amostra a ser analisada, isto é, amostra de solo ou sedimento, nos quais diferentes teores de MO podem ser encontrados³⁶. Desses extratores alcalinos, NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ têm sido extensivamente empregados na extração das HS em solos. Vários trabalhos encontrados na literatura^{3,5,37} mostraram que, em geral, o rendimento de extração para o HA obtido empregando soluções de NaOH (0,1 – 0,5 mol L^{-1}) é maior quando comparado as soluções de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (0,1 – 0,5 mol L^{-1}), embora o uso de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ minimiza as alterações químicas que possam eventualmente ocorrer nas HS. O emprego de sais neutros como agentes extratores também ocorre e a extração da MO se dá devido a formação de complexos solúveis e/ou insolúveis com íons de Ca(II), Fe(III) e Al(III) ou outros cátions polivalentes no qual a MO possa estar ligada, liberando-a para a fase aquosa³¹.

Em geral, uma solução 0,1 mol L^{-1} $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ extrai menos de 30% da MO removida por uma solução equimolar de NaOH³, embora resultados espectroscópicos indicam que esse extrator pode extrair MO de maior massa molar quando comparado ao $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ³⁸⁻³⁹. Zacccone *et al.*⁴⁰ estudaram a

influência do extrator na estrutura de HA extraído de solos turfa e verificaram através de métodos analíticos como FT-IR e espectroscopia de luminescência total (TL) que HA extraídos com soluções de NaOH ou NaOH + Na₄P₂O₇ são similares, entretanto HA extraídos somente com solução de Na₄P₂O₇ apresentam estruturas moleculares diferentes. A maior parte dos resultados analíticos indica que Na₄P₂O₇ extrai um material húmico geralmente de alta massa molar, apresentando uma elevada aromaticidade, porém de baixa alifaticidade. Em particular, FT-IR e as razões atômicas (H/C, O/C) calculadas para o HA extraído com Na₄P₂O₇ indicam que esse extrator preferencialmente solubiliza compostos aromáticos contidos na amostra e ainda adiciona grupamentos fosfóricos na superfície da molécula de HA. Além disso, a fração de HA extraída está geralmente contaminada por quantidades significativas de sais inorgânicos que são co-extraídos juntamente ao material húmico⁴¹, elevando o teor de cinzas nessas amostras quando comparado ao HA extraído com NaOH.

O extrator pirofosfato não é inerte em relação à molécula de HA podendo levar a algumas alterações quanto ao seu tamanho molar. Conseqüentemente uma rigorosa etapa de purificação é necessária a fim de se obter o HA purificado.

Em estudos conduzidos por Tonelli *et al.*⁴¹, verificaram que os perfis cromatográficos obtidos de HA extraídos com solução 0,1 mol L⁻¹ NaOH não revelaram nenhum pico ou um conjunto de picos além dos característicos para a molécula de HA. Entretanto, quando as frações de HA foram redissolvidas em solução de pirofosfato, (contendo 0,3 - 0,03% em fósforo, respectivamente) o pico cromatográfico principal relacionado ao HA foi convertido em um conjunto complexo de picos devido provavelmente a formação de complexos entre o pirofosfato e os íons metálicos que estão ligados ao material húmico, especialmente Al(III) e Fe(III). Com base nessas considerações, extrações da MO empregando solução 0,1 mol L⁻¹ NaOH são preferíveis ao uso de pirofosfato em certas circunstâncias, como é o caso para as amostras de solo turfa, por exemplo. Os resultados obtidos por Tonelli *et al.*⁴¹ indicaram que o uso de NaOH não causou mudanças evidentes na distribuição do tamanho molar do HA, sugerindo que tanto reações de condensação como dissociação nas HS não ocorreram de forma significativa

nesse meio alcalino. Portanto, soluções de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ devem ser empregadas quando se deseja extrair HS que contenham espécies que são facilmente susceptíveis a reações de oxidação e/ou condensação. Contudo, nesse caso, um cuidadoso procedimento de purificação deverá ser realizado a fim de se remover tanto os grupamentos fosfato que possivelmente possam estar na superfície da macromolécula húmica, como também quantidades significativas de contaminantes inorgânicos.

Procedimentos de extração propostos empregando somente a solução de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ou em conjunto com outras soluções básicas, como NaOH ou Na_2CO_3 ^{29,35,42-43}, verificaram que as frações de HA obtidas apresentaram-se mais humificadas, revelando um alto teor aromático e carboxílico. Entretanto, as características e quantidades das HS extraídas empregando os extratores mais comumente utilizados, NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, assim como a razão HA/FA, mudaram significativamente de acordo com o tipo de solo e/ou extrator utilizado. Por exemplo, resultados obtidos empregando diferentes tipos de solos provenientes da região Sul do Brasil indicaram que o $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ pode extrair HS contendo uma massa molar média maior do que aquelas extraídas com solução de NaOH⁴⁴. Os autores também observaram que as HS extraídas mostraram diferenças não somente na sua estrutura, mas também nas características tanto químicas quanto moleculares dependendo do agente extrator escolhido, sendo que a quantidade extraída de MO foi provavelmente influenciada pelo tipo de solo submetido ao processo de extração.

Um método alternativo de extração das HS do solo foi proposto por Rosa *et al.*³⁰ empregando solução de KOH. Nesse estudo, os parâmetros que influenciam na extração alcalina, tais como tipo de extrator, concentração do extrator, tempo de extração, temperatura, razão solo/extrator e granulometria da amostra foram previamente analisados. Uma seqüência de experimentos de extração das HS em solo turfa foi realizada empregando uma solução 0,5 mol L^{-1} de KOH por um período de 3 h, na razão solo/extrator de 1/20 (m/v) sob atmosfera de N_2 . Esse método proposto foi comparado ao método de extração sugerido pela IHSS, e verificou-se que as amostras de HA extraídas com solução de KOH apresentaram menor teor de cinzas comparativamente aquelas obtidas pelo método da IHSS. A temperatura de extração também foi avaliada e verificou-se que sob altas temperaturas podem ocorrer alterações

estruturais na molécula de HA devido a possíveis reações de oxidação e quebras de ligações de complexos formados entre o material húmico e silicatos presentes no solo, elevando o teor de FA e, conseqüentemente, reduzindo o teor de HA. Nesse trabalho, a escolha do reagente KOH como agente extrator se deu devido ao maior raio iônico de íons K^+ quando comparados aos íons Na^+ , apresentando desta forma uma melhor mobilidade iônica em meio aquoso quando comparado ao íon Na^+ . Os contra-íons no caso, Na^+ ou K^+ , responsáveis pela interação e solvatação das cargas negativas oriundas da macromolécula húmica, apresentam diferentes comportamentos em meio aquoso. De fato, um maior raio iônico para o íon K^+ favorece uma melhor estabilização da macromolécula, devido a um eficiente contrabalanço das cargas negativas presente nos grupamentos ácidos. Verificou-se também por meio de técnicas analíticas como análise elementar, FT-IR e espectrofotometria UV-Vísivel (razão E_4/E_6) que a fração de HA obtida é similar ao HA/IHSS. Como última consideração, o rendimento de extração obtido foi maior quando comparado ao método IHSS. Esse método proposto parece ser eficiente para a extração das HS em solos turfa, reduzindo significativamente o tempo de extração comparado ao laborioso método sugerido pela IHSS. Dessa forma, pode-se verificar a importância em se propor métodos de extração mais otimizados que levem ao produto desejado, ou seja, que não promova significativas alterações na macromolécula húmica e também que apresente um rendimento aceitável em um tempo de extração relativamente curto.

O efeito do aquecimento na etapa de extração alcalina empregando solução de KOH em diferentes amostras de solo turfa também foi estudado por Cegarra *et al.*⁴⁵, indicando que em temperaturas de 20, 50 e 80 °C houve um decréscimo na razão HA/FA para a turfa da espécie *Sphagnum*, embora o oposto ocorreu com a turfa da espécie *Carex*. Além disso, mudanças estruturais foram também observadas na molécula de HA extraído nessas condições para ambos os tipos de solo turfa. Por exemplo, esses HA apresentaram um menor teor de grupamentos funcionais e um maior tamanho molecular quando comparados aos HA extraídos nas mesmas condições sob temperatura ambiente. De fato, o procedimento de extração deve ser realizado sob temperatura ambiente visando evitar possíveis mudanças estruturais na macromolécula húmica. Em estudos realizados por Rosa *et al.*³⁰ verificou-se

também que a diminuição da granulometria da amostra favorece a extração de maiores quantidades de MO no solo, devido provavelmente a maior superfície de contato entre o solo e o agente extrator.

Outros procedimentos de extração e variações desses procedimentos têm sido propostos na literatura, alguns empregando vários tipos de solventes orgânicos como: dimetilsulfóxido, dimetilformamida e ácido fórmico. Hayes¹⁹ concluiu que bons solventes orgânicos devem apresentar um fator eletrostático (ou produto de permissividade relativa e momento de dipolo) maior que 140 e um pK_{HB} (medida da “força” do solvente como receptor de íons de hidrogênio) maior que 2. Dimetilformamida (DMF) e dimetilsulfóxido (DMSO) satisfazem esses requerimentos. Além disso, esses solventes dissolvem materiais poliméricos, formam fortes associações intermoleculares com água, apresentam uma alta constante dielétrica o que favorece a dissociação iônica, solvata cations metálicos e, finalmente, são quimicamente inertes a temperatura ambiente. Como alguns compostos podem ser adsorvidos sob minerais argilosos esses solventes podem ainda romper os complexos formados entre a MO e argilas.

Extrações seqüenciais exaustivas foram realizadas por Hayes *et al.*³⁵ empregando água destilada, pirofosfato de sódio em intervalo de pH (7-10,6) em meio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH. Os extratos obtidos foram percolados em colunas contendo a resina XAD-8 [(poli)-metilmetacrilato] e a resina XAD-4 (estirenodivinilbenzeno), sendo as duas frações da MO, i.e. HA e FA isoladas. Tradicionalmente o processo de isolamento das HS envolve o uso de resinas do tipo Amberlite, XAD-8. O emprego dessas resinas é proposto pelo método de extração adotado pelo IHSS para o isolamento e fracionamento das HS e tem sido também usado para sua purificação. Em condições ácidas, todos os ácidos orgânicos estão totalmente protonados, ocorrendo então o processo de adsorção desses ácidos sob a superfície da resina. Esses ácidos orgânicos podem ser desorvidos da resina eluindo-a com uma solução alcalina, geralmente uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH. Esses ácidos orgânicos são comumente conhecidos como substâncias húmicas ou ácidos hidrofóbicos. Nesse trabalho, Hayes *et al.* verificaram por meio de espectros obtidos empregando a técnica de polarização cruzada com rotação em torno do ângulo mágico (CPMAS) ^{13}C -NMR significativas diferenças na composição entre as

frações húmicas isoladas nos diferentes valores de pH's. Clapp & Hayes^{33,46} continuaram essa sequência de extrações, empregando nesse caso um meio reacional contendo DMSO/HCl como agente extrator. O reagente DMSO é caracterizado como um solvente dipolar aprótico, sendo um pobre solvente para ânions, mas um bom solvente para cátions⁴⁷, e no caso das HS, para que ocorra a sua solvatação é necessário a troca de íons H^+ da macromolécula húmica levando a se comportar como uma molécula polar sendo também capaz de formar ligações por pontes de hidrogênio. Clapp & Hayes⁴⁶ apontaram que a substância isolada em meio contendo DMSO/HCl, poderia ser classificada como humina dentro da definição convencional para as HS, apresentando porém algumas características de HA e FA. Uma alternativa para os estudos de extração seqüencial exaustiva das HS em solos poderia ser o emprego de soluções alcalinas conjuntas, como por exemplo, o uso de soluções de NaOH/Na₄P₂O₇ seguindo-se o fracionamento das HS por eluição do extrato obtido em diferentes valores de pH empregando resinas XAD. Assim, extrações com DMSO/HCl poderiam ser realizadas após as extrações com soluções alcalinas. Geralmente, as substâncias solúveis nesse solvente são classificadas como humina, por apresentar propriedades semelhantes a essa fração da MO. Contudo, as substâncias isoladas em meio contendo DMSO eram similares a HA e FA e, portanto, Clapp & Hayes⁴⁶ concluíram que alguns materiais que não se dissolveram em meio aquoso provavelmente pela face polar de suas moléculas estar em associação íntima com os colóides inorgânicos presentes no solo. Assim, as cadeias hidrofóbicas presentes nessas moléculas estariam orientadas para o exterior. Materiais não polares e considerados não húmicos co-extraídos empregando o sistema DMSO/HCl são posteriormente retidos em resinas XAD-8 (empregadas para a adsorção de HS e não são desorvidos juntamente com o material húmico quando se emprega solução de NaOH.

Outros agentes extratores também foram investigados por Hayes *et al.*⁴⁸ incluindo além de solventes apróticos dipolares, agentes orgânicos quelantes, piridina, etilenodiamina, hidróxido de sódio, resinas de troca-iônica e sais como o pirofosfato de sódio e cloridreto de etilenodiamina para a extração das HS em solo turfa. Em geral, o poder de extração desses reagentes investigados aumentou na seguinte ordem: sais < agentes orgânicos quelantes < solventes

apróticos dipolares < piridina < etilenodiamina = hidróxido de sódio. A quantidade de MOS extraída por esses reagentes ficou em torno de 13 – 63%. Empregando a técnica de cromatografia em gel, verificaram que os solventes apróticos utilizados, extraíram materiais altamente oxidáveis os quais são geralmente reconhecidos por apresentar componentes de intermediário e baixa massa molar que possam estar presentes na macromolécula do HA. Além disso, dados obtidos a partir de análise elementar e EPR indicaram que a etilenodiamina alterou a natureza química e a composição dos extratos. Apesar de efeitos de oxidação associados ao uso de solução de NaOH, esse foi o melhor dos reagentes estudados na extração das HS, obtendo-se altos teores de MO e maior representatividade para as HS.

Rice & MacCarthy⁴⁹⁻⁵⁰ empregaram o reagente metil-isobutilcetona, MIBK para o isolamento da fração humina em solos após o término de extrações exaustivas com base e verificaram que a fração isolada era composta de lipídeos e materiais do tipo HA. Estudos também foram realizados sobre o uso do MIBK após empregar o sistema DMSO/HCl em extrações seqüenciais exaustivas iniciadas com solução alcalina.

Solventes orgânicos além de sua temperatura e pressão críticas (método de extração de gases supercríticos) apresentaram propriedades satisfatórias na solvatação de substâncias orgânicas poliméricas⁵¹. Nesse estudo a MO extraída apresentou menor teor de cinzas e maior rendimento de extração comparado ao método IHSS.

Como pode ser observado, diferentes tipos de procedimentos de extração empregando diferentes substâncias como agentes extratores são propostos na literatura. Entretanto, entre todas as alternativas propostas, as soluções alcalinas são capazes de extrair apreciável quantidade de MO do solo, geralmente de estrutura molecular complexa com elevada aromaticidade e alta massa molar.

Algumas patentes referentes à produção de HA também fornecem importantes informações em relação a extração de HS. Uma patente⁵² depositada no ano de 1969 descreveu a produção de HA de lixo urbano e esgoto a partir de um processo de fermentação no qual empregou-se uma cultura de fungos e bactéria. Após cuidadosa etapa de fermentação, fez-se uma extração com solução de NaOH e o HA é obtido abaixando-se o pH para

aproximadamente 1-2 com solução ácida. Esse HA é geralmente utilizado como fertilizante natural na agricultura. O processo proposto auxilia na diminuição da disposição do lixo urbano, reduzindo a poluição ambiental. Outra patente⁵³ depositada em 1960 descreveu a produção de HA purificado para o tratamento de reumatismo crônico e gastrite. Para uso oral em seres humanos, HA altamente purificado é necessário, ou seja, livre de possíveis contaminantes como albumina, celulose, hemicelulose, lignina, graxas e resinas. O processo de produção desse tipo de HA purificado compreende uma extração alcalina em turfa ou outro tipo de material similar, seguindo-se o abaixamento de pH com solução ácida diluída, posterior lavagem e secagem do HA precipitado. O agente extrator empregado na extração do HA é uma solução aquosa de carbonato e sulfato de amônio. Na Tabela 1.0 é mostrado alguns dos métodos de extração empregados como também o rendimento de extração das HS extraídas de solo.

Tabela 1.1 Métodos de extração convencional e extratores empregados na remoção das HS em solos.

Método de Extração	Extrator	Rendimento de Extração (%)	Referência
IHSS	0,1-0,5 mol L ⁻¹ NaOH	80	21
Solução alcalina	0,1-0,5 mol L ⁻¹ Na ₄ P ₂ O ₇	30	27,28,29,40,42
Solução alcalina	1 mol L ⁻¹ Na ₂ CO ₃	30	43
Solução alcalina	0,5 mol L ⁻¹ KOH	> 80	30,45
Solvente orgânico	DMF/DMSO	20	33,46,48
Ácido fórmico	HCOOH	55	3

1.1.2.1 Outros Métodos para a Extração das HS em Solos

Resinas removem as HS presentes em solos por meio de ligações catiônicas⁵⁴, ou seja, para separar um cátion fracamente ligado a MO de um cátion que está fortemente ligado, resina sulfonada e carboxilada são utilizadas

em série⁵⁵⁻⁵⁶. Uma extração final com solução alcalina é necessária para a extração do material húmico que ainda não foi removido na etapa de extração empregando ambas as resinas. Dado que o teor de cinzas em HS extraídas com resina é maior que às extraídas pelo método IHSS, Shirshova *et al.*⁵⁷ realizaram um estudo comparativo de extração empregando o método da resina e o método IHSS com e sem o pré-tratamento da amostra de solo empregando solução mista contendo benzeno/metanol. Nesse estudo, as amostras de HA obtidas por ambos os métodos apresentaram baixo teor de cinzas e similar composição elementar. Maior valor para o rendimento de extração foi obtido pelo método IHSS em comparação ao método da resina. Dados obtidos por espectrofotometria UV-Vísivel e espectroscopia de fluorescência indicaram que o emprego da solução mista proposta contendo benzeno/metanol não alterou significativamente a estrutura molecular e, portanto, as características dos HA extraídos tanto pelo método da resina como pelo método do IHSS. Entretanto, algumas diferenças nas características espectroscópicas entre as frações de HA obtidas por ambos os métodos foram observadas. Verificaram que as diferenças nas características do material húmico extraído se tornavam mais pronunciadas com um maior tempo de contato do solo com o extrator.

Em todos os experimentos realizados, as resinas utilizadas foram previamente tratadas consumindo apreciável tempo.

Outras técnicas analíticas como energia de ultra-som e radiação microondas têm sido propostas para a extração de HS em amostras de sedimentos marinhos visando otimizar a etapa de extração alcalina e também o pré-tratamento da amostra⁵⁸⁻⁶⁰. A aplicação da energia de ultra-som em métodos para o preparo de amostra é de interesse atual, sendo que há vários estudos relacionados ao pré-tratamento de amostras assistida por ultra-som principalmente para amostras orgânicas⁶¹. Apesar da energia de ultra-som reduzir drasticamente o tempo de extração, como também o número de extrações seqüenciais exaustivas, as condições de sonicação devem ser cuidadosamente avaliadas a fim de evitar mínimas alterações na estrutura e composição das HS.

O primeiro trabalho relacionado ao emprego de ultra-som para acelerar o tempo de extração das HS presentes em sedimentos marinhos foi publicado

por Mecozzi *et al.*⁵⁸. Esses autores verificaram que as possíveis reações de oxidação que podem ocorrer com as HS em meio fortemente alcalino, tal como ocorre no método convencional proposto por Carter *et al.*⁶², podem ser minimizadas na extração acelerada por energia de ultra-som. O método convencional de Carter *et al.*⁶² é um método laborioso assim como o método do IHSS para solos e, compreende a extração das HS em sedimentos marinhos empregando como agente extrator uma solução 0,5 mol L⁻¹ NaOH e agitação por 24 h sob temperatura ambiente. Dessa forma, o método empregando ultra-som reduziu o tempo de extração de 24 h para 30 min utilizando solução 0,5 mol L⁻¹ NaOH. Moredo-Piñeiro *et al.*⁵⁹ avaliaram comparativamente as amostras de HA extraídas pelo método de ultra-som com os métodos do IHSS e de Carter e colaboradores, e verificaram que a energia de ultra-som não produziu mudanças na composição elementar das frações de HA e FA extraídas. Entretanto, espectros de FT-IR para as amostras de HA e FA extraídas pelos três métodos de extração (método de ultra-som, IHSS e Carter) indicaram algumas diferenças somente para a fração fúlvica. Os espectros de FT-IR para FA extraído pelo método de ultra-som e Carter foram similares. Porém, algumas significativas diferenças entre os espectros obtidos pelos métodos ultra-som e IHSS, principalmente na região 1000 – 1700 cm⁻¹ podem indicar a ocorrência de processos oxidativos durante a extração das HS.

Embora a aplicação de energia por radiação microondas no preparo de amostras seja uma estratégia analítica já bastante estabelecida e utilizada⁶³, a extração de HS em amostras de solos e de sedimentos marinhos ainda têm sido pouco empregada. Diferentemente do aquecimento convencional, o aquecimento por microondas ocorre em toda a amostra simultaneamente sem aquecimento direto do recipiente no qual a amostra está contida, possibilitando que a solução rapidamente atinja seu ponto de ebulição. Esse tipo de aquecimento pode contribuir para a redução do tempo de extração da MOS, contudo é preciso atenção para a possibilidade de alterações estruturais causadas por pontos de superaquecimento na solução. Romarís-Hortas *et al.*⁶⁴ estudaram a extração de HS em sedimentos marinhos assistida por radiação de microondas. As duas principais vantagens no emprego desse tipo de radiação são: a alta eficiência do processo de extração e a geração de condições de extração não oxidativas quando comparadas aos métodos da

IHSS e Carter. Verificou-se que o rendimento de extração obtido para as HS foi maior em relação aos procedimentos convencionais, empregando nesse caso, um menor tempo de extração (dois ciclos de extração de 10 min cada). Resultados de análise elementar obtidos para as HS extraídas por meio do emprego de radiação por microondas foram similares aos obtidos pelo método do IHSS, Carter e radiação por energia de ultra-som. Além disso, espectros de FT-IR indicaram similaridades quanto à estrutura molecular das HS extraídas por radiação de microondas quando comparadas aos métodos convencionais e também ao método empregando ultra-som.

Pode-se constatar que esses estudos estão centrados na análise das duas frações das HS, isto é, ao HA e FA, enquanto que a terceira fração, a humina pouco tem sido investigada⁶⁵. Acredita-se que a MO não extraída com álcali (humina) seja composta por substâncias de alta massa molecular ou de material húmico associado a sesquióxidos e silicatos. Um crescente interesse em relação ao estudo da humina vem sendo verificado na literatura⁶⁶. Por exemplo, entre alguns estudos analisados, a extração/isolamento da fração humina é realizada removendo-se previamente o HA e FA das amostras de solos por extrações seqüenciais exaustivas com solução alcalina. Em seguida, a remoção de componentes minerais presentes nos solos ocorre através do emprego de solução de HF⁶⁷⁻⁶⁹ ou ainda, solução de HF após um pré-tratamento do solo com $\text{CHBr}_3\text{-EtOH}$ ⁷⁰ ou com DMSO ⁷¹⁻⁷². Baglieri *et al.*⁷³ propuseram um método para o isolamento da humina após a remoção do HA e FA em amostras de solos. Ou seja, após a extração das duas frações das HS (HA e FA), o solo foi tratado duas vezes com solução aquosa de glicerol a 50 % v/v, uma vez com solução 0,5 mol L⁻¹ de ácido cítrico e mais uma vez com solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH + 0,1 mol L⁻¹ Na₄P₂O₇. Empregando diversas técnicas analíticas, tais como FT-IR, UV-Visível, ¹H-NMR e análise elementar, para as três frações de humina obtidas, constatou-se que empregando as soluções de glicerol e NaOH + Na₄P₂O₇ as frações continham um baixo teor de nitrogênio e alto teores de carbono, material inorgânico (teor de cinzas) e acidez. Além disso, para cada solo estudado, a fração de humina obtida a partir do emprego da solução de ácido cítrico mostrou alguma similaridade à fração correspondente de HA. Na Tabela 1.1 são mostrados outros métodos de extração das HS em solos que vêm sendo utilizados e seu rendimento de

extração comparados ao método de Carter para a extração de HS em sedimentos.

Tabela 1.2 Outros métodos empregados na extração das HS em solos.

Método de Extração	Extrator	Rendimento de Extração (%)	Referência
Resinas	RSO ₃ Na RCOONa	30%	55,57
Método Ultra-som	0,5 mol L ⁻¹ NaOH	> Convencional Carter método (5%)	58-59
Radiação Microondas	0,1 mol L ⁻¹ NaOH	> Convencional Carter método (70%)	60

1.1.3 Estrutura Proposta para as Substâncias Húmicas

Devido a natureza heterogênea e complexa das HS e apesar de esforços de pesquisadores da área, pouco se conhece sobre sua estrutura química. Na literatura há muitas propostas estruturais para as HS, entretanto nenhuma parece ser inteiramente satisfatória⁷⁴. A dificuldade para se propor uma estrutura bem definida para as HS está associada, possivelmente, aos diferentes estágios de degradação do material, como também da origem do solo, das condições ambientais ao qual o solo está exposto e também aos tipos de microorganismos que estão presentes nesse solo.

Baseados em uma variedade de técnicas e análises, Schulten & Schnitzer⁷⁵ propuseram um modelo estrutural para o HA como verificado na Figura 1.0.

Tabela 1.3 Grupamentos funcionais presentes na estrutura das HS.

Grupamentos Funcionais	Fórmula
Carboxil	-COOH
Carbonil	-CO
Amino	-NH ₂
Imidazol	Anel aromático NH
Fenol, OH	Anel aromático OH
Álcool, OH	-OH
Sulfidril	-SH

Portanto, há necessidade de se conhecer os grupamentos funcionais, pois as interações eletrostáticas nas HS são resultantes das interações entre prótons e cátions monovalentes com esses grupamentos.

A composição elementar média para o HA e FA foi estimada⁷⁸ e está apresentada na Tabela 1.4.

Tabela 1.4 Valores médios para a composição elementar das HS de solos.

Composição Elementar Média (%)					
HS	C	H	O	N	S
Ácido Húmico	53,8-58,7	3,2-6,2	32,8-38,3	0,8-4,3	0,1-1,5
Ácido Fúlvico	40,7-50,6	3,8-7,0	39,7-49,8	0,9-3,3	0,1-3,6

Baseado nos dados da Tabela 1.4 a fórmula mínima estimada para o HA é C₁₀H₁₂O₅N e para o FA é C₁₂H₁₂O₉N, desconsiderando-se o enxofre, que pode apresentar variação nessas moléculas. O FA geralmente contém menor quantidade de carbono (41-51%) e maior quantidade de oxigênio (40-50%) comparativamente ao HA. A relação C/H é menor para o FA indicando maior aromaticidade e uma estrutura mais condensada. A relação C/N, associada ao grau de decomposição do material, não apresenta grande variação para ambos os ácidos.

Apesar da dificuldade de propor uma estrutura bem definida para as HS, muitas informações sobre suas características estruturais são bem conhecidas.

Ou seja, há quatro principais características estruturais dos HA e FA influenciados por suas reatividades químicas⁷⁹:

1) polifuncionalidade, a existência de uma variedade de grupos funcionais, representando uma mistura de interação de polímeros;

2) carga macromolecular, desenvolvimento de caráter aniônico na estrutura macromolecular como resultado de efeitos na reatividade de grupos funcionais e conformação molecular;

3) hidrofiliidade, tendência de formar ligações por pontes de hidrogênio com moléculas de água, solvatando os grupos funcionais polares como o COOH e OH;

4) labilidade estrutural, capacidade de se associar intermolecularmente e mudar a conformação molecular em resposta as mudanças de pH, condições redox e concentração do eletrólito (força iônica) do meio reacional.

1.1.4 Caracterização Estrutural das HS

1.1.4.1 Análise de Grupamentos Funcionais

As HS comportam-se como polieletrólitos fracamente ácidos e são passíveis de análises por técnicas baseadas na dissociação de seus grupos funcionais ácidos, normalmente grupos carboxílicos de menor valor de pK e de grupos fenólicos mais fracos. Sabe-se, por exemplo, que nos ácidos orgânicos policarboxílicos, a dissociação de todas as carboxilas não ocorrem simultaneamente, verificando-se várias etapas de dissociação desses grupamentos ácidos, sendo que cada carboxila apresenta um valor de pK particular. Assim, a análise dos grupamentos funcionais permite avaliar a reatividade das HS, pois a natureza complexa dessas substâncias é derivada diretamente do grande número de diferentes grupos funcionais presentes na sua estrutura. Ácidos policarboxílicos mostram uma série de constantes de dissociação que diminuem à medida que íons H⁺ vão se dissociando. Os fenóis substituídos apresentam-se ligeiramente mais dissociados que os não substituídos. Eventualmente, algum outro grupo ácido presente na molécula das HS possa estar pouco dissociado devido possivelmente à formação de pontes de hidrogênio inter e intramoleculares. Essa baixa reatividade também pode estar associada a proteção desses grupamentos ácidos por fatores

estéricos existentes na estrutura macromolecular das HS. Outras dificuldades na determinação quantitativa dos grupos funcionais são: 1) baixa solubilidade dos HA em água ou em solventes orgânicos; 2) ocorrência de reações paralelas e; 3) a natureza não estequiométrica das reações utilizadas para avaliar a acidez. Além disso, a elucidação das propriedades protonantes desses ácidos também é complicada devido a natureza polimérica e a heterogeneidade das HS. Ou seja, o primeiro é responsável pela forte dependência de seu comportamento potenciométrico sobre a força iônica do meio reacional; o segundo é devido a presença de um conjunto de grupos funcionais apresentando diferenças quanto ao teor ácido⁸⁰.

Um método freqüentemente utilizado para se determinar a acidez total das HS é o procedimento proposto por Schnitzer & Gupta⁸¹ com base em duas reações distintas. Uma para a determinação da acidez carboxílica e a outra para a acidez total. A acidez fenólica é obtida pela diferença entre a acidez total e a carboxílica. Para a determinação da acidez total, deixa-se reagir uma amostra de HA com excesso de hidróxido de bário em pH próximo a 13 de forma a possibilitar a dissociação de todas as funções químicas, mesmo as mais fracas, fazendo precipitar o sal húmico de bário. O excesso de hidróxido de bário é titulado com solução padronizada de ácido clorídrico. Entretanto, os resultados obtidos por esse método são variáveis e subestimados devido à carbonatação da solução de Ba(OH)₂. O CO₂ atmosférico, em equilíbrio com a solução, subtrai íons OH⁻ tituláveis para a formação de carbonato de bário. Contudo, Prado *et al.*⁸² empregando o método proposto por Schnitzer & Gupta, desenvolveram um sistema para a filtração e titulação do HA em meio aquoso contendo o hidróxido de bário, sendo que esse sistema está isolado do ar sob atmosfera de N₂. Assim evita-se a formação de BaCO₃, pois não se permite o contato da amostra com o ar durante as etapas de filtração e titulação das amostras de HA. Os resultados para os teores de acidez carboxílica e fenólica utilizando o sistema proposto foram comparados ao método convencional proposto por Schnitzer & Gupta. Esses autores verificaram que empregando o sistema proposto os valores obtidos para o teor de acidez foram mais precisos quando comparados ao método padrão. Assim, esse sistema melhorou consideravelmente os resultados diminuindo o erro experimental e o desvio padrão associados às medidas, conferindo ao método proposto por Schnitzer &

Gupta maior confiabilidade e reprodutibilidade. Já a determinação do teor de acidez dos grupamentos carboxílicos, COOH, principal determinante da acidez das HS, (pelo método Schnitzer & Gupta) é geralmente estimada pelo método do acetato de cálcio, que reage com os íons H^+ trocáveis da molécula húmica. O ácido acético liberado durante a reação é titulado com solução padrão de NaOH. Nesse caso, o acetato de cálcio reage com os grupos OH ácidos superestimando a acidez e o número de grupamentos COOH. Além disso, a formação de um agregado húmico, através de pontes de cálcio intermoleculares, pode representar uma dificuldade estérica para a troca de cálcio e o H^+ do grupo carboxílico, resultando assim em uma subestimação do teor de COOH.

Sabe-se que os grupamentos ácidos, principalmente os ácidos carboxílicos e os fenólicos podem se ligar a prótons e/ou cátions metálicos influenciando diretamente na geoquímica de ambientes aquáticos, isto é, modificando tanto a capacidade tampão das águas naturais como também a especiação e o transporte desses cátions metálicos. Visando melhor observar e entender a capacidade tamponante das HS e sua habilidade em se ligar aos cátions metálicos, equilíbrios ácido-base dessas substâncias devem ser conhecidos. Titulações potenciométricas ácido-base são geralmente empregadas a fim de quantificar os grupos funcionais ácidos das HS e, a partir desse dado, estimar o equilíbrio ácido-base que ocorre com essas substâncias presentes no ambiente⁸³⁻⁸⁶. Um procedimento usual é a neutralização do HA com uma base forte para o estudo das propriedades ácidas, ocorrendo nesse caso, um contínuo aumento da força iônica, solubilidade e também na concentração de cátions trocáveis com conseqüente mudança nos respectivos coeficientes de atividade⁸⁷⁻⁸⁸. Para amenizar esses problemas, uma boa recomendação é o emprego de uma concentração fixa da solução eletrolítica nos estudos de equilíbrio. Neves et al.⁸⁹, empregaram uma solução titulante contendo $Ba(OH)_2/BaCl_2$ em força iônica constante, $\mu = 0,75 \text{ mol L}^{-1}$ para a titulação potenciométrica dos grupamentos ácidos da macromolécula húmica. Nesse estudo, verificaram que um cátion divalente, no caso o Ba^{2+} aumenta a dissociação dos grupamentos ácidos em comparação a um cátion monovalente, no caso íons Na^+ . De fato, altos valores de dissociação (menores valores de pK 's) foram obtidos quando se utilizou solução contendo íons Ba^{2+}

em comparação ao emprego da solução titulante contendo íons Na^+ . Entretanto, observou-se que o mesmo número de grupamentos ácidos foi titulado empregando ambas as soluções eletrolíticas. Estudos também têm sido conduzidos no intuito de verificar se tempos diferentes de adição do titulante à solução contendo o HA influenciam no equilíbrio ácido-base que deve ser estabelecido logo após a adição de cada incremento dessa solução titulante^{84,87}.

Entretanto, os dados sobre o conteúdo de grupamentos funcionais nas HS devem ser interpretados com cuidado. Dessa forma, qualquer discussão sobre propriedades químicas dos HA, FA ou huminas deve considerar seu comportamento em solução ou em estado sólido. Pois não só existe uma grande variedade de métodos de extração, fracionamento e purificação, mas também uma variedade enorme de procedimentos analíticos para a determinação dos grupamentos funcionais⁹⁰⁻⁹¹. Além disso, complicações adicionais são decorrentes da baixa solubilidade natural das HS em água. Em geral, os dados obtidos por um método não coincidem exatamente com aqueles oferecidos por outros métodos. Por isso, na caracterização quantitativa dos grupamentos funcionais das HS é importante esclarecer adequadamente qual foi o método utilizado e não devem ser feitas comparações com outros trabalhos nos quais os procedimentos de extração tenham sido diferentes. Os dados devem ser tratados com bom senso e sempre de forma relativa, comparando-se com alguma amostra de referência. Por exemplo, se todos os sítios de uma molécula húmica estão dissociados (e isso pode acontecer no caso de uma baixa concentração de humato de sódio em um eletrólito altamente diluído e, em valores de pH neutro ou alcalino) ocorrem forças de repulsão entre essas moléculas. A molécula se expande e se rearranja para minimizar a energia eletrostática livre criada. Entretanto, se mais eletrólito é adicionado a esse meio, a repulsão eletrostática é diminuída e a molécula se contrai. Assim, uma mesma substância húmica pode apresentar valores diferentes de massa molecular dependendo do pH ou da força iônica do meio reacional. A diminuição da repulsão eletrostática pode ser obtida através da adição de cátions di- e trivalentes. A adição de prótons pelo processo de acidificação apresenta o mesmo efeito, uma vez que as ligações formadas são fortes. Quando a concentração do sal (ou de cátions metálicos) for

suficientemente alta, as forças eletrostáticas repulsivas são suprimidas e podem ser superadas por forças atrativas de curta distância. Nessas condições, associações moleculares, tais como: coagulação, agregação, floculação podem ocorrer e, eventualmente, promover a precipitação das HS.

1.1.5 Determinação de Carbono e Matéria Orgânica em Solos

A determinação do teor de carbono em amostras de solos é de fundamental interesse, principalmente no estudo dos estoques de carbono ou do potencial de sequestro de carbono nesses solos. Diversos métodos têm sido utilizados para a determinação de carbono e de MO de solos⁹²⁻⁹⁵, entretanto há uma carência de informações consistentes quanto à definição e recomendação do método mais adequado para a obtenção de resultados confiáveis e adequados, principalmente para a análise de solos com elevados teores de MO.

Grande parte das características de uma amostra de solo contendo teores variáveis de MO são obtidas a partir de sua composição elementar. Os primeiros experimentos para a determinação da composição elementar das HS foram realizados por Sprengel e Berzelius⁹⁶ entre os anos de 1826 e 1845. Segundo esses pesquisadores, as HS eram constituídas essencialmente por carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e oxigênio (O), sendo C e O os elementos mais abundantes. A utilização de analisadores elementares automáticos trouxe avanços consideráveis, possibilitando análises mais rápidas e confiáveis⁹⁷. Esse método baseia-se na oxidação da amostra em altas temperaturas, 1000 °C, sendo que posteriormente os gases são separados por uma coluna cromatográfica e detectados, geralmente, por condutividade térmica⁹⁸. Analisa-se simultaneamente C, H, N e enxofre (S), sendo que o teor de oxigênio é determinado simplesmente por diferença. As amostras podem ser analisadas tanto na forma sólida, líquida ou gasosa, o que é uma vantagem para esse método. Entretanto, a quantidade de amostra pode influenciar no resultado e geralmente essas análises requerem massas de amostras superiores a 1,00 mg, a fim de garantir uma melhor representatividade. Geralmente quando se empregam massas de amostras inferiores a 1,00 mg ocorre um alto desvio padrão na média das réplicas avaliadas. O custo de cada

análise é elevado e a manutenção do equipamento também demanda insumos de alto custo.

O carbono pode ser encontrado nos solos tanto na sua forma elementar, como carvão, grafite entre outras, como também pode estar presente em substâncias inorgânicas na forma de carbonatos, hidrogeno carbonatos e dióxido de carbono. Já na forma orgânica pode estar presente na constituição de plantas e animais⁹⁹.

O princípio da análise total de carbono (TOC) é converter completamente todas as formas de carbono presentes no solo a dióxido de carbono por simples combustão, em elevadas temperaturas, geralmente a 900 °C, calcinando-se as amostras na forma sólida. Assim, pode-se determinar tanto o carbono total quanto o carbono inorgânico e, então, por diferença entre esses valores calcula-se o teor de carbono orgânico contido na amostra. Os métodos de combustão por via seca geralmente são conhecidos por método de perda de massa por ignição (PMI).

Métodos para a determinação do teor de MO empregando-se a calcinação da amostra até massa constante a 450 ou 750 °C também têm sido propostos⁹⁸. Entretanto, uma limitação desse método é a dificuldade em se distinguir entre a perda térmica de água (água de constituição) e/ou outros constituintes inorgânicos da degradação da MO. Geralmente os valores obtidos para o teor de MO são elevados quando comparados aos métodos de combustão por via úmida¹⁰⁰. Até recentemente, os métodos PMI não eram freqüentemente empregados em laboratórios de rotina, principalmente devido ao longo tempo necessário para a pesagem das amostras. Entretanto, nos últimos anos, a maior preocupação com a qualidade do meio ambiente nos países desenvolvidos estimulou o uso desse método, o qual tem sido viabilizado com a automatização dos procedimentos de pesagem¹⁰¹.

Em laboratórios de rotina no Brasil, a oxidação do carbono por via úmida, no caso o método de Walkley-Black⁹⁵ tem sido muito empregado devido a sua simplicidade e baixo custo. Além disso, apresenta boa exatidão promovendo a oxidação das frações de MO mais reativas do solo⁹⁴. Esse método, que ao longo do tempo sofreu algumas modificações¹⁰², baseia-se na oxidação da MO em solos a CO₂ e H₂O, por íons dicromato, em meio fortemente ácido,

geralmente ácido sulfúrico, formando a solução sulfocrômica conforme representado pela equação:



Nesse processo, considera-se o dicromato reduzido equivalente ao carbono orgânico existente na amostra de solo e o excesso de dicromato é titulado com íons ferrosos, Fe(II), obtidos a partir de uma solução previamente padronizada de sulfato ferroso. Nessas titulações a indicação visual do ponto final é detectada empregando-se difenilamina juntamente com ácido fosfórico para complexar o Fe(III) formado:



Na determinação por titulação, a quantidade de carbono orgânico é obtida pela diferença entre a quantidade de Fe²⁺ gasta na titulação da prova em branco (Cr(VI) total adicionado) e aquela gasta na titulação do dicromato que restou após a oxidação do carbono na amostra. Convém ressaltar que esse método assume que todo o carbono da MO está no estado de oxidação zero¹⁰². Esse método infere na determinação da MO facilmente oxidável ou decomponível do solo, que inclui húmus e resíduos, mas exclui carvão e carbonatos.

A reação de oxidação no método Walkley-Black ocorre sem aquecimento externo, ou seja, depende somente do calor desprendido pela diluição do H₂SO₄ 98% (v/v) em solução aquosa. Desse modo, a oxidação do carbono da MO não é completa e para compensar essa oxidação parcial, aplica-se um fator de correção de 1,33. Como o método determina o teor de carbono orgânico, a conversão para MO é feita pelo fator de van Bemmelen (1,724) com base no pressuposto de que a MO do solo contém aproximadamente 58% de C orgânico.

Alternativamente, pode-se determinar diretamente a quantidade de íons Cr(III) por colorimetria, medindo-se a intensidade da cor esverdeada produzida por esses íons em solução⁹⁴. A determinação por colorimetria, normalmente usada em rotina, requer a obtenção de uma curva analítica de calibração. Essa

curva é feita com uma série de amostras de solo, nas quais o teor de MO é determinado por titulação, que apresenta maior precisão. Esse método utiliza o dicromato de sódio ao invés do de potássio, devido à maior solubilidade do primeiro. Além disso, a oxidação da MO é feita sem fornecimento externo de calor, apenas agitando o solo em uma solução contendo dicromato de sódio e ácido sulfúrico¹⁰³. Entretanto, esse método não é muito recomendado, visto que a absorvidade molar do produto é facilmente afetada por pequenas variações na composição do meio reacional.

A oxidação da MO em amostras de águas por método bem estabelecido², inclusive para se obter a demanda química de oxigênio, DQO, é uma adaptação da metodologia proposta por Walkley-Black para as amostras de solos. A MO é oxidada em uma solução fortemente oxidante diluída em $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Promove-se a ebulição em um sistema por refluxo durante um tempo relativamente longo de 2 h e, posteriormente, titula-se o excesso de íons dicromato com solução padrão de íons ferrosos, Fe(II), em presença de ácido fosfórico. Para esses procedimentos oxidimétricos é bem aceita a idéia de se utilizar como padrão de MO, em razoável aproximação, o hidrogenoftalato de potássio, visto que a estequiometria redox de uma mistura de compostos orgânicos se afasta ligeiramente do que se espera para o padrão de hidrogenoftalato. Em meio ácido o íon hidrogenoftalato libera ácido ftálico $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4$, contendo 57,84% de carbono; 3,64% de hidrogênio; 38,52% de oxigênio apresentando uma massa molar de $166,13 \text{ g mol}^{-1}$.

Embora o método de Walkley-Black seja muito utilizado em laboratórios de solo, deve-se ter em mente que o emprego do reagente dicromato resulta na adição de cromo aos resíduos líquidos. Esse elemento ocorre naturalmente no ambiente no estado de oxidação trivalente, Cr(III), sendo considerado um elemento essencial ou benéfico aos seres vivos. Entretanto, quando na forma hexavalente, Cr(VI), é considerado tóxico aos seres humanos, pois em contato com a pele, ou via ingestão, pode causar ulcerações, irritação e inflamação estando também associado ao risco de câncer¹⁰⁴. Assim, os laboratórios devem se conscientizar do problema da disposição ambiental do cromo e tratar seus resíduos antes de simplesmente descartá-los como um resíduo comum. Contudo, caso o laboratório não tenha condições de tratar seus próprios resíduos, deve entrar em contato com uma unidade de tratamento de resíduos.

Os laboratórios enviam para essa unidade os resíduos nocivos para que possam ser adequadamente tratados e até mesmo após o tratamento serem descartados ao meio ambiente, claro que nesse caso, em uma forma não tóxica.

Algumas modificações têm sido propostas para o método de Walkley-Black no intuito de obter maior precisão e exatidão na análise do teor de MO em amostras de solos e sedimentos. Krejčova *et al.*¹⁰⁵ propuseram algumas modificações no método de Walkley-Black aplicado para a determinação do teor de MO em amostras de solos. Esses autores propuseram o emprego da titulação potenciométrica utilizando nesse caso, eletrodo redox, no qual se media a variação de potencial conforme incrementos da solução de sulfato ferroso eram adicionados a suspensão. No ponto final, uma significativa mudança no potencial era detectada por dois eletrodos de platina, observando de forma mais precisa o ponto final dessa titulação. A titulação potenciométrica é mais precisa e exata que uma titulação usando indicador visual tal como proposta no método de Walkley-Black. Tam *et al.*¹⁰⁶ também propuseram algumas modificações no método Walkley-Black na análise de TOC em amostras de sedimentos marinhos. Nesse estudo, as amostras de sedimentos foram colocadas em contato com uma solução ácida contendo dicromato e a suspensão obtida foi aquecida utilizando um forno de microondas doméstico. O programa de aquecimento empregado totalizava um tempo de 7 min para a completa digestão dessas amostras. O desvio padrão obtido a partir das medidas realizadas foi pequeno, em torno de 3-4% quando comparado ao desvio obtido pelo método convencional, geralmente maior que 4%. Assim, o método proposto empregando radiação microondas parece ser um método bastante aceitável considerando-se simplicidade, exatidão, precisão e recuperação de carbono nas amostras analisadas. Uma outra modificação bastante simples no método de Walkley-Black possibilita a determinação simultânea de carbono orgânico e também do nitrogênio potencialmente mineralizável em amostras de solos¹⁰⁷. Para determinar o teor de C nessas amostras, como usual, uma solução de sulfato ferroso foi empregada na titulação do dicromato em excesso na solução após a etapa de oxidação da MO presente nesses solos. Íons NH_4^+ liberados devido a ação oxidativa do dicromato nesse meio ácido, pode ser determinado destilando-se uma alíquota

da solução com uma solução fortemente básica a 50 % m/m de NaOH. Ou seja, em meio básico forma-se a amônia que pode ser destilada com vapor de água e o destilado básico resultante, titulado com solução ácida padrão. Nesse caso, o método de Kjeldahl foi aplicado para a estimativa do teor de N mineralizado nesse meio altamente oxidante.

1.1.6 Objetivo do Estudo

Considerando-se a relevância em propor métodos analíticos de extração de HS em solos, o objetivo deste estudo foi desenvolver um método simples e rápido de extração que apresente um rendimento relativamente alto, baixo teor de cinzas e sem alterações estruturais significativas das HS, utilizando soluções de carbonato de sódio e hidróxido de sódio como extrator desse material húmico.

O presente trabalho também teve como objetivo propor um método que possibilite a identificação dos grupamentos ácidos em amostras de HA realizada em meio de força iônica constante, $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl. Essa condição favorece um aumento da solubilidade da macromolécula húmica tanto por dissociação como por neutralização de seus grupamentos ácidos, por troca simultânea entre os íons H^+ (grupamentos ácidos) pelos cátions metálicos da solução eletrolítica empregada, especialmente quando uma solução alcalina é adicionada a esse meio. Assim, empregando titulação potenciométrica ácido-base uma média das constantes de dissociação condicionais, $\text{pK}'\text{s}$ referentes aos grupamentos ácidos tituláveis podem ser estimadas, considerando que a matriz orgânica (macromolécula húmica) se comporta como um ácido poliprótico.

Estudos visando otimizar o método para a determinação da MO em solos proposto por Walkley-Black também foram realizados, visto que alguns parâmetros como volume de ácido empregado, temperatura do meio reacional, detecção do ponto final da titulação, entre outros, foram analisados visando garantir uma completa oxidação da MO presente nesses solos e conseqüente melhoria de exatidão do resultados.

Materiais e Métodos

1.2.1 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas usando reagentes de grau analítico e água destilada, previamente borbulhada com nitrogênio, a fim de se eliminar a presença do dióxido de carbono dissolvido, sempre que necessário.

Todas as vidrarias e os frascos de polipropileno foram lavados com sabão neutro, Triton X-100 e posteriormente enxaguados com água destilada a fim de evitar qualquer contaminação.

1.2.2 Calibração dos Instrumentos Volumétricos

As pipetas e buretas foram calibradas em triplicata com água destilada a temperatura de 25°C. Pipetou-se a quantidade de água correspondente ao volume da pipeta e, em seguida, utilizando-se um béquer, pesou-se a quantidade pipetada. O volume real pipetado foi calculado com a densidade conhecida, correspondente a temperatura da água, encontrada em literatura¹⁰⁸.

1.2.3 Centrífuga

Utilizou-se a centrífuga MLW, modelo K26D nos procedimentos de extração do AH trabalhando-se com 4 recipientes de politetrafluoretileno, PTFE, de 400 mL. As suspensões (solo + solução extratora) foram colocadas em cada recipiente. Esses recipientes dispostos em diagonais opostas foram previamente pesados para garantir equilíbrio de massas. A rotação empregada variou de 2000-4000 rpm durante 10-20 min, dependendo da necessidade do processo de extração.

1.2.4 Preparo das Soluções

1.2.4.1. Solução de KCl 0,50 mol L⁻¹

Pesou-se uma massa de 18,64 g de KCl e dissolveu-se em 500 mL de água desionizada para o preparo da solução de KCl 0,50 mol L⁻¹.

1.2.4.2 Solução Ácida Mista contendo HCl 0,02 mol L⁻¹, LiCl 0,16 mol L⁻¹ e KCl 0,32 mol L⁻¹ em $\mu = 0,50$ mol L⁻¹

Pipetou-se 8,13 mL de uma solução previamente padronizada de HCl 0,2461 mol L⁻¹ e diluiu-se em um volume de 100 mL de água desionizada,

obtendo-se uma solução de concentração final $0,02018 \text{ mol L}^{-1}$. Para a obtenção da solução de LiCl $0,1604 \text{ mol L}^{-1}$, pipetou-se $59,00 \text{ mL}$ de uma solução previamente padronizada de LiCl $0,2718 \text{ mol L}^{-1}$ e diluiu-se nesse mesmo volume de água desionizada, 100 mL . Para a solução de KCl $0,32 \text{ mol L}^{-1}$, pesou-se uma massa de $2,39 \text{ g}$ de KCl e dissolveu-se no mesmo volume de 100 mL de água desionizada, obtendo-se uma solução ácida mista em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

1.2.4.3 Solução Básica Mista contendo KOH $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, KCl_3CCOO $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$ em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$

Pipetou-se $3,00 \text{ mL}$ de uma solução previamente padronizada de KOH $0,6709 \text{ mol L}^{-1}$ e diluiu-se em um volume de 100 mL de água desionizada, obtendo-se uma solução de concentração final de $0,02013 \text{ mol L}^{-1}$. Para a solução de KCl_3CCOO $0,06002 \text{ mol L}^{-1}$, pipetou-se $89,00 \text{ mL}$ de uma solução estoque $0,06736 \text{ mol L}^{-1}$ e diluiu-se nesse mesmo volume de água desionizada, 100 mL . Para a solução de KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$, pesou-se uma massa de $3,13 \text{ g}$ de KCl e dissolveu-se no mesmo volume de 100 mL de água desionizada, obtendo-se uma solução básica mista em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$.

1.2.4.4 Solução Padrão de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$

A solução de NaOH isenta de íons carbonato empregada nas titulações condutométricas foi preparada de acordo com o procedimento proposto por Silva¹⁰⁹.

1.2.4.5 Solução Padrão de Dicromato de Potássio, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,2500 - 0,3300 \text{ mol L}^{-1}$

Para o preparo da solução padrão de dicromato de potássio, pesou-se uma quantidade suficiente desse reagente e secou-se em estufa a uma temperatura de aproximadamente $100 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h . Completada essa etapa, o reagente foi colocado em um dessecador para resfriar. A partir do reagente previamente seco, foi preparada a solução padrão com concentração em torno de $0,2500 - 0,3300 \text{ mol L}^{-1}$, por simples tomada de massa e dissolução do sal

em um balão volumétrico, sendo o volume completado para 1000 mL de solução.

1.2.4.6 Solução Padrão de Sulfato Ferroso, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,7500 mol L⁻¹

A solução de sulfato ferroso foi preparada utilizando-se o sal de sulfato ferroso heptahidratado. A partir desse reagente foi preparada uma solução 0,7500 mol L⁻¹, por simples tomada de massa e dissolução do sal em um balão volumétrico, sendo o volume completado para 1000 mL de solução. Nesse caso utilizou-se água previamente borbulhada com nitrogênio e também adicionou-se nessa solução aproximadamente 20,00 mL de H₂SO₄ 98% (m/m) visando minimizar a oxidação de Fe(II) a Fe(III). Essa solução foi padronizada, utilizando-se a solução padrão de K₂Cr₂O₇ (0,2500 - 0,3300 mol L⁻¹) buscando determinar exatamente a quantidade de íons ferrosos. No caso dessa solução, a padronização deve ser realizada constantemente, pois a concentração sempre pode sofrer alguma variação, devido a facilidade de oxidação de Fe(II) a Fe(III).

1.2.4.7 Solução Padrão de Hidrogenoftalato de Potássio, $\text{HOCOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$ 0,03000 mol L⁻¹

Para o preparo da solução padrão de hidrogenoftalato de potássio, pesou-se uma quantidade suficiente do reagente e secou-se em estufa a uma temperatura de aproximadamente 100 °C durante 1 h. Completada essa etapa, o reagente foi colocado em um dessecador para resfriar. A partir do reagente previamente seco, foi preparada uma solução padrão com concentração de 0,03000 mol L⁻¹, por simples tomada de massa e dissolução do sal em um balão volumétrico, sendo o volume completado para 1000 mL de solução.

1.2.5 Coleta e Secagem do Solo Turfa

As HS foram extraídas de solo turfoso, coletado a uma profundidade de 40 cm, em uma turfeira localizada na bacia do rio Mogi-Guaçu, nas proximidades do km 40 da rodovia SP – 255 (São Carlos – Ribeirão Preto),

município de Luiz Antônio, Estado de São Paulo – Brasil. A coleta desse solo se deu em uma área relativamente alagada, ou seja, a margem do rio.

Depois de coletado, o solo turfa foi seco a temperatura ambiente e posteriormente realizou-se uma limpeza manual para a retirada de raízes e restos de plantas junto ao solo. Em seguida, a amostra de solo foi destorroada em moinho para solo com a finalidade de aumentar a superfície específica e, conseqüentemente, a velocidade e eficiência na extração e, posteriormente, passada através de peneira com 2 mm de abertura de malha para melhor homogeneização.

1.2.5.1 Amostra de Ácido Húmico

Para a determinação do teor de MO pelo método de Walkley-Black modificado, a amostra de HA estudada foi obtida pelo método de extração pela IHSS, conforme descrito na Seção 1.2.7.2, página 57.

1.2.5.2 Amostra de Vermicomposto

Amostra de vermicomposto de esterco bovino foi empregada na análise do teor de MO pelo método de Walkley-Black. O vermicomposto de esterco bovino é resultado da transformação do esterco pela ação combinada de minhocas presentes no solo e também da microflora que vive no trato digestivo do ruminante. Por exemplo, minhocas do tipo *Eisenia Foetida* (vermelha da Califórnia), *Lumbricus Rubellus* e *Lumbricus Terrestris* produzem o vermicomposto ou húmus contendo MO, areia e silte a partir de uma dieta à base de solo contendo o esterco.

1.2.6 Instrumentação

1.2.6.1 Medidas Potenciométricas

Para a detecção dos grupamentos funcionais presentes na macromolécula húmica, as medidas potenciométricas foram realizadas, empregando-se um eletrodo de vidro combinado da Analyser, Ag/AgCl, KCl 0,50 mol L⁻¹, conectado a um pHmetro da Orion, Expandable Ion Analyser, modelo EA 940. As análises foram realizadas em célula eletroquímica termostaticada a temperatura de 25 ± 0,1°C.

Para a determinação do teor de MO pelo método de Walkley-Black modificado, as medidas potenciométricas foram realizadas utilizando-se um eletrodo indicador de grafite combinado com o eletrodo de referência de Ag/AgCl, KCl 3,5 mol L⁻¹ da marca ORION. Esses eletrodos foram acoplados a um voltímetro da marca GoldStar modelo DM-341.

1.2.6.2 Medidas Condutométricas

As medidas de condutância foram obtidas utilizando-se uma cela condutométrica marca Digimed, modelo DMC – 010 com constante de célula de 1,00 cm⁻¹ conectada a um condutivímetro da marca Micronal, modelo B330. Para manter a temperatura em torno de 25 °C utilizou-se um banho termostaticado da marca Ética.

1.2.7 Procedimento Experimental

1.2.7.1 Procedimento para Determinação do Teor de Umidade e Teor de Cinzas para a Amostra de Solo Turfa

A determinação do teor de cinzas para a amostra de solo turfa foi realizada da seguinte forma¹¹⁰: inicialmente pesou-se cerca de 1,00 g do material em cadinho de platina, previamente tarado. Em seguida a amostra de solo turfa foi colocada em mufla, executando-se o seguinte programa de aquecimento: primeiramente a mufla foi programada para atingir uma temperatura em torno de 100 °C durante 1 h a fim de se evaporar toda a água contida na amostra. Completada essa primeira etapa, colocou-se o solo em um dessecador até o mesmo retornar a temperatura ambiente. Determinou-se o teor de água por diferença de massa. Iniciou-se então a segunda etapa, na qual a amostra de solo turfa foi queimada a uma temperatura de 450 °C por 2 h. Finalizada essa etapa, aguardou-se que o solo retornasse a temperatura ambiente dentro do dessecador, determinando-se o teor de cinzas por diferença de massa. Na última etapa, programou-se novamente a mufla para atingir uma temperatura de 800 °C, no qual o solo permaneceu sob esta condição durante 30 min. Após essa terceira queima, determinou-se novamente o teor de cinzas.

1.2.7.2 Extração e Fracionamento das Substâncias Húmicas

1.2.7.2.1 Método Padrão Sugerido pela IHSS

A extração do HA segundo o método sugerido pela IHSS, inicia-se com uma extração ácida empregando solução de HCl 0,10 mol L⁻¹ na proporção 1,00 g de solo:10 mL de solução, deixando-se essa suspensão sob agitação constante durante 1 h. Após agitação, centrifugou-se a suspensão em baixa velocidade (2000 rpm) por aproximadamente 15 min e então separou-se o sobrenadante (1^o fração de FA), descartando-o. Em seguida, adicionou-se ao solo turfa solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹, na proporção 1,00 g de solo:10 mL de solução e deixou-se essa suspensão agitando por 24 h, sob atmosfera de nitrogênio. Completada a etapa de extração, centrifugou-se a suspensão em alta rotação (4000 rpm) por aproximadamente 20 min, para auxiliar na remoção de argilas e silicatos que possivelmente foram dissolvidos junto ao material húmico. Separou-se o sobrenadante do resíduo e o acidificou com solução de HCl 6,00 mol L⁻¹ até atingir pH ca. 1,00 sob agitação constante. Em seguida, a suspensão permaneceu em repouso por 12-16 h. A fração precipitada é o HA e a fração solúvel é o FA, ambos foram posteriormente separados e armazenados.

1.2.7.2.2 Purificação do HA de acordo com o método sugerido pela IHSS

A purificação do HA foi efetuada redissolvendo-o em solução de KOH 0,10 mol L⁻¹ e adicionando-se KCl para alcançar uma concentração em íons K⁺ equivalente a 0,30 mol L⁻¹. Deixou-se essa solução em agitação por 10 min sob atmosfera de N₂. Após agitação, centrifugou-se para remover sólidos em suspensão e, em seguida, acidificou-se com solução de HCl 6,00 mol L⁻¹ até pH ca. 1,00 para a reprecipitação do HA. Deixou-se essa suspensão em repouso por um período de 12-16 h. Após total decantação do HA, centrifugou-se a suspensão separando o HA (precipitado) e descartando-se o sobrenadante.

Uma segunda etapa de purificação do HA foi efetuada empregando-se uma solução ácida mista contendo HCl 0,10 mol L⁻¹/HF 0,30 mol L⁻¹, deixando-se essa suspensão contendo o HA sob agitação por aproximadamente 24 h.

Centrifugou-se a suspensão, descartando-se o sobrenadante. O HA purificado foi submetido a um processo de lavagem com três porções sucessivas de água destilada, sendo que a cada lavagem, centrifugava-se a suspensão descartando-se sempre o sobrenadante.

Submeteu-se o HA a um processo de diálise durante 7 dias em água destilada e desionizada até teste negativo para íons cloreto. Para a diálise utilizaram-se membranas Spectra/Por 6-8 000D que foram ativadas para uso de acordo com o método proposto por MC PHIE¹¹¹ removendo as substâncias preservadoras presentes nessas membranas. Finalmente, o HA foi liofilizado e armazenado em dessecador.

1.2.7.2.3 Método Proposto para Extração das HS em Solos

O método proposto inicia-se realizando uma extração ácida empregando solução de HCl na proporção 1,00 g de solo:10 mL de solução, deixando-se essa suspensão sob agitação constante durante 20 min. A quantidade de HCl 36% v/v adicionado, foi previamente determinada da seguinte forma: pesou-se cerca de 5,00 g de solo turfa e o adicionou em 50,00 mL de água (respeitando sempre a proporção 1,00 g solo:10 mL de solução). Em seguida, acompanhando-se a variação de pH e sob agitação constante, incrementos de 0,50 mL de HCl 36% g/g foram adicionados à essa suspensão até a mesma atingir pH ca. 1,00. Após verificado o volume de HCl 36% g/g necessário para atingir esse pH, a proporção encontrada entre o volume de HCl 36% g/g adicionado e a quantidade de solo deverá ser seguida, caso se empregue maiores quantidades de solo. Finalizada a etapa de extração ácida, centrifugou-se a suspensão em baixa velocidade (2000 rpm) por aproximadamente 15 min e então se separou o sobrenadante (1^a fração de FA, de baixa massa molar), descartando-o. Em seguida, o solo turfa passou por um processo de lavagem com água destilada (total de 3 lavagens), sendo que a cada lavagem centrifugava-se a suspensão descartando-se o sobrenadante.

Iniciou-se a etapa de extração alcalina, adicionando-se primeiramente ao solo turfa solução de Na₂CO₃ 0,050 mol L⁻¹, na proporção 1,00 g de solo:10 mL de solução e deixou-se essa suspensão agitando por 20 min, acompanhando-se continuamente o decréscimo de pH. Completada essa primeira etapa,

iniciou-se uma segunda etapa de extração, adicionando-se a essa mesma suspensão, NaOH sólido de forma que a concentração final da solução atingisse um valor em torno de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em NaOH. Deixou-se a suspensão agitando por mais 20 min, acompanhando-se continuamente o decréscimo de pH. Finalizada a etapa de extração alcalina, centrifugou-se a suspensão em alta rotação (4000 rpm) por aproximadamente 20 min. Separou-se o sobrenadante e o acidificou com HCl 36% g/g até a solução atingir pH ca. 1,00 sob agitação constante. A fração precipitada é o HA e a fração solúvel é o FA que foram posteriormente separados e armazenados. O produto final obtido (cloridrato de ácido húmico, RCOOHCl) passou por uma etapa de lavagem empregando solução de HCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e posteriormente com água destilada (3 lavagens com solução de HCl e 3 lavagens com água destilada), sendo que a cada lavagem centrifugava-se a suspensão descartando-se sempre o sobrenadante. Esse HA foi seco a uma temperatura em torno de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, tomando o cuidado para não ultrapassar esse valor, pois caso contrário a matéria orgânica poderia ser termicamente decomposta.

1.2.7.2.4 Procedimento Proposto para a Purificação das Amostras de HA

A etapa de purificação aqui proposta foi empregada tanto para a amostra de HA/método proposto como também para o HA/IHSS. Essa etapa iniciou-se empregando uma solução ácida mista contendo HCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ /HF $0,30 \text{ mol L}^{-1}$ na razão HA:solução ácida, 1:10 m/v.

Foram realizados dois experimentos:

1º deixou-se a suspensão formada (HA + solução ácida) agitando sob temperatura ambiente durante 24 h;

2º deixou-se a suspensão (HA + solução ácida) agitando durante 1 h sob aquecimento brando em temperatura máxima de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, tomando o cuidado para não ultrapassar esse valor. Após essa etapa de aquecimento, manteve-se uma agitação constante da suspensão a temperatura ambiente durante 24 h.

Imediatamente após a etapa de purificação, a suspensão contendo HA foi centrifugada, descartando-se o sobrenadante. O HA purificado foi submetido a um processo de lavagem com três porções de água destilada, sendo que após cada lavagem, centrifugava-se a suspensão. As amostras de HA foram

submetidas a um processo de secagem em temperatura de aproximadamente 40 °C e, em seguida, as caracterizações dessas amostras foram realizadas.

1.2.8 Caracterização das Amostras de Ácidos Húmicos

1.2.8.1 Procedimento para a Determinação do Teor de Cinzas em Amostras de HA

A determinação do teor de cinzas para as amostras de HA foi efetuada da mesma forma descrita na seção 1.2.7.1 (análise do teor de umidade e cinzas para a amostra de solo turfa, pág. 56).

1.2.8.2 Análise Elementar

A análise química elementar para as amostras de HA e de solo turfa foi realizada utilizando o aparelho CHNS-O da marca CE-Instruments, modelo EAGER 200 do Departamento de Química da UFSCar.

1.2.8.3 Análise de Infravermelho com Transformada de Fourier

Para a realização das medidas foram preparadas pastilhas na proporção 1,00 mg de amostra de HA para cada 100 mg de KBr (grau FT-IR). O espectrômetro de FT-IR utilizado foi da marca Bomem (MB séries), modelo 2(Mid-IR); equipado com o software Win-Bomem Easy, versão 3.02. Os espectros foram obtidos nos seguintes parâmetros: 16 varreduras, no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução espectral de 2 cm^{-1} , sendo 11 varreduras/min.

1.2.8.4 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de NMR no estado sólido foram obtidos em um espectrômetro Varian (Unity 400), operando a uma frequência de ressonância de 100,58 MHz. As amostras de HA (300 mg) foram inseridas em um rotor de zircônia de 5 mm de diâmetro, com rotação em torno do ângulo mágico (MAS) de 6,4 KHz, monitorando o núcleo do isótopo de ^{13}C . Um tempo de repetição em torno de 500 ms, tempo de contato de 1 ms e um tempo de aquisição de 0,0128 ms foram empregados para a aquisição dos espectros. Os

deslocamentos químicos foram referenciados em relação ao hexametilbenzeno. A partir das áreas dos espectros foram calculadas as intensidades relativas dos grupos: alifáticos não substituídos (0-45 ppm), metoxil e N-alifáticos (45-60 ppm), O-alifáticos (60-110 ppm), aromáticos (110-140 ppm), fenólicos (140-160 ppm), carboxílicos (160-185 ppm) e carbonílicos (185-230 ppm)³.

1.2.8.5 Análise por Espectrofotometria UV-Visível, Razão E_4/E_6

Os espectros de absorção na região do visível foram obtidos usando espectrofotômetro Hewlett Packard, modelo 8452a conectado a um computador HP Vectra 286/12. Utilizaram-se soluções contendo cerca de 2,00 mg da amostra de HA em 10,00 mL de solução de NaHCO_3 0,050 mol L^{-1} , ajustadas para pH 8. As medidas foram efetuadas na região de 400-700 nm. A partir do espectro obtido, determinou-se a razão E_4/E_6 , ou seja, a razão entre as absorbâncias medidas nos comprimentos de ondas de 465 e 665 nm.

1.2.9 Procedimento para a Calibração do Eletrodo de Vidro em Força Iônica Constante Ajustada para 0,50 mol L^{-1}

A fim de minimizar potenciais de junção, que são comuns em medidas potenciométricas, o compartimento interno do eletrodo de vidro foi preenchido com solução de KCl 0,50 mol L^{-1} , ou seja, na mesma concentração das soluções analisadas. Dessa forma, as medidas obtidas referem-se a $\text{p}[\text{H}^+]$ ou $\text{p}[\text{OH}^-]$ indicando concentração iônica ao invés da convencional atividade iônica. O eletrodo de vidro foi calibrado tanto em meio ácido como em meio alcalino.

Para a calibração do eletrodo de vidro em meio ácido, uma solução eletrolítica mista, contendo: HCl 0,02018 mol L^{-1} , LiCl 0,1604 mol L^{-1} e KCl 0,32 mol L^{-1} foi adicionada com auxílio de uma bureta, com incrementos de 0,50 mL, em 49,96 mL de solução de KCl 0,50 mol L^{-1} . Essa titulação foi realizada de forma manual, sob temperatura constante de 25 °C em célula eletroquímica termostaticada. As adições da solução eletrolítica foram constantes, isto é, em torno de 1 min entre uma adição e outra. Nesse caso, $\text{p}[\text{H}^+] = -\log[\text{H}^+] = 1,699$.

Para a calibração do eletrodo de vidro em meio alcalino, uma solução eletrolítica mista, contendo: KOH 0,02013 mol L⁻¹, Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹ e KCl 0,42 mol L⁻¹, também foi adicionada com auxílio de uma bureta, com incrementos de 0,50 mL, em 49,96 mL de solução de KCl 0,50 mol L⁻¹. Essa titulação também foi realizada de forma manual sob temperatura constante de 25 °C. As adições da solução eletrolítica foram constantes, isto é, em torno de 1 min entre uma adição e outra. Nesse caso, $p[H^+] = 13,680 - p[OH^-]$, sendo que o valor 13,680 corresponde ao K_w^{112} em força iônica de 0,50 mol L⁻¹, a temperatura de 25 °C. Já o valor de $p[OH^-]$ é obtido a partir do cálculo de diluição da solução eletrolítica mista contendo KOH durante a titulação. Dessa forma, as soluções eletrolíticas mistas contendo esses tipos de eletrólitos, compensam a alta mobilidade tanto dos íons H⁺ como também dos íons OH⁻, minimizando o efeito do potencial de junção que pode ocorrer em meio ácido e em meio alcalino.

Programas computacionais em linguagem QuickBASIC – SlopeH.BAS e SlopeOH.BAS - foram desenvolvidos visando analisar os dados experimentais.

1.2.9.1 Titulações Potenciométrica de HA em Força Iônica Ajustada para 0,50 mol L⁻¹

Titulações potenciométricas das amostras de HA foram realizadas, em suspensões contendo 50 - 100 mg de HA em 50,00 mL de solução de KCl 0,50 mol L⁻¹. Em todas as suspensões contendo HA, adicionou-se também, o dispersante, DMSO. Esse dispersante apresenta a função de auxiliar na dissolução do HA em solução aquosa, proporcionando medidas potenciométricas mais estáveis. Para a determinação dos grupamentos ácidos potencialmente tituláveis presentes nas amostras de HA e seus respectivos valores de pK's, a solução titulante empregada foi a solução básica mista composta por KOH 0,02013 mol L⁻¹/Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹/KCl 0,4203 mol L⁻¹. As titulações foram realizadas de forma manual sob temperatura constante de 25 °C, com incrementos de 0,25 mL e fluxo constante de N₂ sobre a suspensão. O tempo de adição da solução titulante à solução contendo HA foi constante, estando em torno de 1 min entre uma adição e outra. Os resultados experimentais foram analisados, empregando para tal propósito programas

computacionais em linguagem QuickBasic – Calib2.BAS e Derivar.BAS. Assim, as análises dos dados de $E/p[H^+]$ possibilitaram calcular os valores de pK 's referentes a cada grupamento ácido titulável na amostra de HA.

1.2.9.2 Titulação Condutométrica de Ácido Húmico

Pesou-se uma massa de amostra de HA em torno de 100 mg e adicionou-se a massa pesada em 49,96 mL de água desionizada e 5,01 mL do dispersante DMSO. Deixou-se a suspensão obtida sob agitação constante por aproximadamente 30 min e titulou-se condutometricamente com solução padronizada de NaOH. Durante as titulações borbulhou-se gás N_2 na suspensão de HA. As titulações foram realizadas adicionando-se a suspensão de HA, incrementos de 0,20 mL do titulante ao longo de toda a titulação, consumindo um volume total de 10,00 mL da solução alcalina para as amostras de HA analisadas. As titulações foram realizadas de forma manual, e o intervalo de tempo entre as adições da solução titulante à solução contendo HA foi constante, estando em torno de 1 min entre uma adição e outra.

1.3 Determinação do Número de Elétrons Experimental, Z_e

Pipetou-se um volume de 6,00 mL de solução padrão de hidrogenofalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$ em 6,00 mL de solução padrão de dicromato de potássio $0,2500 - 0,3300 \text{ mol L}^{-1}$ totalizando um volume operacional de 12,00 mL. Adicionou-se rapidamente a essa solução, cerca de 12,00 mL de ácido sulfúrico concentrado 98% (m/m) sob agitação constante e deixou-se a solução resultante resfriando no mínimo por 30 min. Diluiu-se e titulou-se potenciométricamente o excesso de íons dicromato com solução padrão de sulfato ferroso $0,7684 \text{ mol L}^{-1}$. A adição da solução titulante de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, foi feita utilizando-se uma bureta calibrada de $25,00 \pm 0,02 \text{ mL}$.

O volume total de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ consumido em cada titulação foi da ordem de 10,00 mL. Os incrementos de volume foram de 1,00 mL no início e no fim das titulações e de 0,20 mL na vizinhança do ponto final. O intervalo de tempo decorrido entre a adição de cada incremento do titulante e a medida de potencial (em V), foi sempre uniforme durante a titulação.

Várias determinações possibilitaram obter um valor médio e preciso do número de Ze experimental envolvido na oxidação do íon hidrogenoftalato, utilizando para esta finalidade, um programa computacional em linguagem QuickBASIC (Microsoft) – Zredut.BAS - desenvolvido neste grupo de pesquisa.

1.3.1 Determinação da Matéria Orgânica em Diversas Amostras

Para a determinação da MO em amostras de solo turfa, HA, vermicomposto, entre outras, as quais também foram analisadas empregando tal procedimento, pesou-se cerca de 40-50 mg da amostra sólida previamente homogeneizada com almofariz e pistilo, e adicionou-se a amostra um volume de 6,00 mL de solução padrão de dicromato de potássio 0,2500 - 0,3300 mol L⁻¹. Para totalizar um volume de solução aquosa de 12,00 mL, adicionou-se 6,00 mL de água destilada e, em seguida, rapidamente sob agitação constante, 12,00 mL de ácido sulfúrico concentrado 98% m/m, respeitando sempre a razão 1:1 v/v solução aquosa:ácido concentrado. Completada essa etapa, deixou-se a solução resultante resfriando por 30 min e então diluiu-se e titulou-se potenciométricamente o excesso de íons dicromato com solução padrão de sulfato ferroso 0,7685 mol L⁻¹. Nessas titulações o volume total de solução de FeSO₄.7H₂O consumido depende da amostra de solo em conter maior ou menor teor de MO, ou ainda do tipo de amostra que está sendo analisada. Os incrementos de volume foram de 1,00 mL no início e no final das titulações e de 0,20 mL na vizinhança do ponto final. O intervalo de tempo decorrido entre a adição de cada incremento do titulante e a medida do potencial (em V) foi sempre constante durante a titulação.

O valor de Ze experimental obtido conforme descrito anteriormente foi empregado em outros programas computacionais também em linguagem QuickBASIC – Zorganic.BAS, para posterior tratamento dos dados experimentais, obtendo-se valores de percentagem de MO oxidada e também da demanda química de oxigênio, (DQO). Esses programas computacionais também foram desenvolvidos neste grupo de pesquisa.

1.3.2 Procedimento para Remoção de Íons Nitrato, NO_3^- presentes no H_2SO_4 98% (m/m)

Para a determinação do teor de íons nitrato em ácido sulfúrico, titulou-se potenciométricamente 20,00 mL de H_2SO_4 98% m/m diluído em 12,00 mL de água desionizada com uma solução padrão de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. A remoção de íons nitrato foi obtida através da adição do reagente sulfito de sódio na proporção 1:1 v/v (concentração de sulfito de sódio:concentração de nitrato) em um volume de H_2SO_4 98% v/v. Por exemplo, para um volume de 100,00 mL de H_2SO_4 98% m/m, contendo uma concentração de íons nitrato em torno de $0,01787 \text{ mol L}^{-1}$, foi adicionado uma massa de 0,1699 g de sulfito de sódio. Deixou-se a suspensão obtida em agitação constante por 1 h, passando-se um fluxo de gás N_2 para auxiliar na remoção do HNO_2 volátil. Após esse período de agitação, observou-se que todo o sulfito de sódio tinha sido dissolvido nesse meio ácido. Então, titulou-se potenciométricamente 20,00 mL do H_2SO_4 98% m/m tratado diluído em 12,00 mL de água com solução padrão de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Nessa titulação não se observou nenhuma queda de potencial conforme o decorrer da titulação, indicando que íons nitrato foram removidos desse meio.

Resultados e Discussão

1.4.1 Análise de Amostra de Solo Turfa

O solo turfa coletado apresenta um aspecto enegrecido típico de solo turfoso, pois além de estar localizado próximo ao rio o que o torna bastante úmido, é coberto por uma vegetação bastante densa favorecida pelas condições típicas do lugar.

O teor de água encontrado no solo turfa foi de 13,0 % (m/m) e a queima desse solo em mufla inicialmente a 450 °C resultou em perda de massa de 38 % (m/m). Portanto o teor de MO presente neste solo é de aproximadamente 25,0 % (m/m). A queima dessa mesma amostra de solo a 800 °C resultou em perda de massa de 40,0 % (m/m), encontrando nesse caso, 27,0 % (m/m) de MO presente. Pode-se verificar que as queimas tanto em temperatura mais baixa (450 °C) como em temperatura mais elevada (800 °C) resultaram em teores de MO próximos. Dessa forma, o solo turfa em estudo apresentou cerca de 27,0 % (m/m) de matéria orgânica e 73,0 % (m/m) de material inorgânico, respectivamente. Esse material inorgânico é composto principalmente por argilas, metais e sais inorgânicos. A Tabela 3.1 apresenta os valores obtidos para as porcentagens de CHNS-O por análise elementar.

Tabela 1.5 Análise Elementar para o Solo Turfa.

Amostra	%C	%H	%N	%S	%O*	C/N	% MO	% cinzas
Solo Turfa	9,01	1,49	1,04	0	15,46	10,14	27	73

*calculado por diferença: $\%O = 100 - (\% (C+H+N+S) + \% \text{ cinzas})$

A relação atômica C/N pode indicar de qual material são originadas as HS. As plantas aquáticas¹¹³ não vasculares apresentam valores de C/N entre 2,00-10,00, enquanto que plantas terrestres vasculares apresentam valores acima de 20. A relação C/N está também associada ao grau de decomposição do material, sendo um indicativo da origem das HS em ambientes naturais. Razões abaixo de 20, como é o caso do solo turfa aqui estudado, (C/N = 10,14), indicam que o processo de humificação foi mais favorecido pela atividade microbiana, como é geralmente observado para as HS extraídas de solos¹¹⁴. Para razões acima de 20, acredita-se que a maior contribuição para a humificação do material seja a predominância de plantas vasculares.

1.4.2 Método Proposto para a Extração das HS em Solos Turfa

Diversas tentativas de extração das HS em solos foram efetuadas, porém a maioria gerou materiais com altos teores de constituintes inorgânicos. Ou seja, em geral o teor de cinzas foi superior a 20 %. Entretanto algumas considerações devem ser feitas para o procedimento de extração, baseando-se em resultados experimentais obtidos, tentando sempre otimizar e tornar mais simples o procedimento proposto pela IHSS. Esse estudo seguiu as seguintes etapas:

1) O processo de extração deve-se iniciar com uma etapa de extração ácida do solo em estudo, pois verificou-se que o pré-tratamento dos solos com ácidos minerais diluídos (HCl) é útil na remoção de carbonatos e/ou silicatos. Óxidos de ferro e alumínio também são solubilizados nesse meio ácido, liberando a fração orgânica para a fase aquosa, podendo dessa forma, contribuir para um maior rendimento de extração das HS e, conseqüentemente, reduzir o teor de cinzas. É importante mencionar que, quando se inicia o processo de extração direta das HS com solução alcalina, ou seja, não realizando o pré-tratamento do solo com solução ácida, o teor de cinzas do produto final é sempre bastante elevado, superior a 20 % atingindo até mesmo 50 % de cinzas¹¹⁰.

2) Finalizada a etapa ácida, com uma fase de lavagem do solo com água, segue-se a etapa alcalina para a efetiva extração das HS. Devido ao alto poder extrator, soluções de NaOH de concentração entre 0,10 – 0,50 mol L⁻¹ na razão solo/extrator de 1:20 m/v têm sido as mais utilizadas na extração da MO de solos. Hayes *et al.*^{19,48} compararam a capacidade de extração das HS em solos, empregando vários solventes e verificaram que a maior capacidade para extração simultânea de HA e FA foi obtida com solução alcalina. Além disso, verificaram também que o pré-tratamento do solo com solução de HCl aumentou consideravelmente o poder de extração das HS por remoção de cálcio e outros cátions polivalentes. Entretanto, nesse tratamento cerca de 5 % do material orgânico na forma de FA de baixa massa molar é geralmente perdido.

A etapa de extração das HS pelo método aqui proposto, inicia-se com adição de uma solução extratora de Na₂CO₃ em concentrações em torno de

0,50-0,30 mol L⁻¹, verificando-se que essa solução removeu significativamente a MO contida no solo. A idéia de utilizar solução de carbonato de sódio baseia-se no fato de que numerosos cátions metálicos, especialmente os divalentes, são removidos como carbonatos, MCO₃, com seus respectivos produtos de solubilidade baixos, ou seja, menores que os dos seus hidróxidos correspondentes. Por outro lado, os íons metálicos trivalentes geralmente são precipitados na forma de seus respectivos hidróxidos, como produto final, mas podem também formar precipitados mistos contendo íons hidróxidos e carbonatos ligados a espécies catiônicas polinucleares. Esse tratamento deve contribuir para um menor teor de cinzas presente no produto final.

Entretanto, altas concentrações de carbonato inicialmente testadas (Na₂CO₃ 0,30-0,50 mol L⁻¹) apresentaram o inconveniente de liberar elevado volume de gás carbônico, com conseqüente intensa formação de espuma na etapa de acidificação do extrato alcalino, como também verificado por Tatzber *et al.*⁴³, entretanto nesse caso os autores nada fizeram para diminuir esse elevado volume de gás desprendido. Para o método aqui proposto, modificações foram feitas no sentido de não ultrapassar o valor de saturação do gás carbônico em meio aquoso¹¹⁵, provocado pela acidificação desse meio contendo carbonato. Por exemplo, uma solução aquosa saturada com gás carbônico a 25 °C contém em torno de 0,036 mol L⁻¹ de CO₂ dissolvido, contudo a supersaturação dessa solução é uma condição fácil de ser atingida. Assim, para os experimentos aqui realizados de extração das HS, empregou-se uma solução de Na₂CO₃ 0,050 mol L⁻¹. É claro que em temperaturas mais elevadas daqui estudada, a solubilização do CO₂ em solução aquosa será menor, devendo assim tomar o cuidado em se trabalhar na temperatura ambiente, isto é, a 25°C.

Verificou-se que o tempo de 20 min de tratamento do solo com solução de Na₂CO₃, na razão solo/extrator 1:10 m/v, é suficiente para uma significativa solubilização das HS, como mostrado na Figura 3.1. Nesse caso, o processo de dissolução da sílica é lento nesse meio menos alcalino e tempos longos de contato do solo com o álcali podem solubilizar a sílica presente, contribuindo para maiores teores de cinzas nas amostras de HA.

Verificou-se também que o emprego somente da solução de carbonato de sódio não é suficiente para a completa remoção da MO contida no solo, pois ao

adicionar uma solução mais fortemente básica, (solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹) imediatamente observou-se um significativo decréscimo no valor de pH da solução. Esse decréscimo de pH indica que HS ainda estão sendo removidas do solo e que empregando somente a solução de carbonato de sódio possivelmente não seja suficiente para a completa extração do material húmico. O ideal para uma completa extração seria então o emprego das duas soluções extratoras em conjunto, garantindo-se desta forma uma significativa remoção da MO, conforme verificado na Figura 1.3:

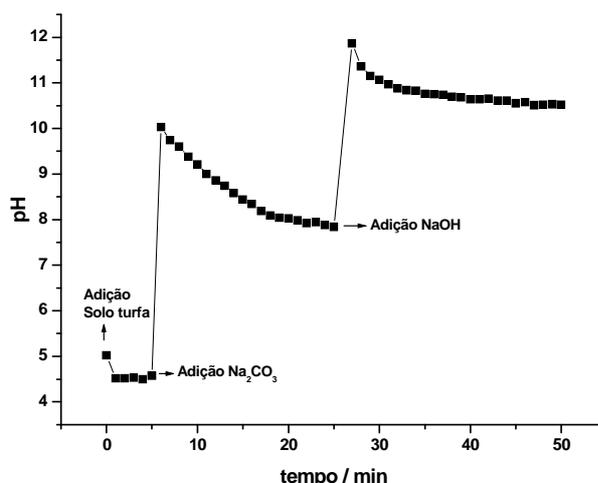


Figura 1.3 Variação do pH em função do tempo frente às adições de extratores alcalinos a) Na₂CO₃ 0,050 mol L⁻¹, b) NaOH 0,10 mol L⁻¹, na razão solo/extrator 1:10 m/v.

Como pode ser verificado na Figura 1.3, ao adicionar a solução extratora de Na₂CO₃ 0,050 mol L⁻¹, houve um acentuado aumento no pH (pH ca. 10) da solução contendo o solo turfa que antes estava em torno de 5. Inicialmente, conforme as HS estão sendo extraídas do solo pela solução extratora uma acentuada queda nos valores de pH é observada com o decorrer do tempo. O pH dessa solução tende a se estabilizar num intervalo de tempo em torno de 20 min, após a adição da solução alcalina. Após esse tempo, praticamente não ocorreu uma variação significativa nos valores de pH, ou seja, praticamente todo o Na₂CO₃ foi consumido nesse processo. Ao adicionar NaOH, verificou-se novamente um súbito aumento no valor do pH da solução (pH ca. 12), com conseqüente diminuição dos valores de pH, pois HS ainda estão sendo

removidas do solo. Pode-se observar também que no tempo em torno de 10 min o pH da solução tende a se estabilizar, não se verificando quase nenhuma variação em aproximadamente 20 min. Percebe-se que a saturação da solução contendo as HS dissolvida é rápida, ou seja, em tempos de 10-20 min a extração já foi completa para ambos os extratores utilizados. Esse dado é importante porque se imagina que dessa forma pode-se evitar o ataque da sílica pelo álcali, um processo mais lento. Assim evitar-se-ia introduzir algo mais a ser eliminado buscando diminuir o teor de cinzas.

3) Finalizando a etapa de extração, o HA é precipitado por acidificação do extrato alcalino, separando-se o sólido (HA) da fase solúvel (FA) por centrifugação. A massa úmida de HA contendo ácido clorídrico residual é seca a 40 °C em estufa e assim elimina-se lentamente o HCl. Entretanto, parte significativa do ácido clorídrico é retida quimicamente no produto obtido, ao protonar grupos básicos de aminas e grupos carboxílicos de pequena basicidade, cujo próton poderia eventualmente ser transferido ao grupo amina formando um zwitterion¹¹⁵. O produto final encontra-se, pois, na forma de cloridrato de ácido húmico, mantendo a estrutura bipolar típica dos aminoácidos, como ocorre com a glicina. O íon cloreto fica como contra-íon que faz o balanço de carga de amino-grupos protonados, R-NH₃⁺Cl⁻ por exemplo, ou ainda menos provável no caso de grupos carboxílicos básicos, provenientes de ácido fraco, retendo o HCl¹¹⁰:



O HA obtido por esse processo de extração passou por uma etapa de caracterização juntamente com o HA obtido pelo processo de extração sugerido pela IHSS.

1.4.3 Caracterização dos HA obtidos pelo Método de Extração da IHSS e pelo Método de Extração Proposto

1.4.3.1 Análise Elementar e Teor de Cinzas

A Tabela 1.6 apresenta os resultados de análise elementar para os elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio e as razões atômicas para as amostras de HA obtidas pelo método IHSS e pelo método proposto.

Tabela 1.6 Análise elementar e razões atômicas para amostras de HA.
(teor médio \pm desvio padrão, n=2)

Amostra	%C	%H	%N	%S	%O*	H/C	O/C	C/N
HA/IHSS	33,19 \pm 0,07	3,20 \pm 0,05	1,62 \pm 0,08	1,25 \pm 0,13	26,70 \pm 0,19	1,16	0,60	23,90
HA/mét. Proposto	36,17 \pm 0,08	3,28 \pm 0,05	1,62 \pm 0,05	1,16 \pm 0,42	33,50 \pm 0,44	1,09	0,69	26,04

*calculado por diferença: $\%O = 100 - (\% (C+H+N+S) + \% \text{ cinzas})$

Como pode ser verificado na Tabela 1.6, tanto os teores dos elementos determinados como os valores obtidos para as razões atômicas calculadas estão relativamente próximos para ambas as amostras de HA. Analisando os valores obtidos para as razões atômicas, iniciando-se a análise com a razão H/C, pois essa indica o grau de maturidade das HS, isto é, quanto menor for essa razão maior é o grau de aromaticidade do HA, apresentando, portanto uma estrutura mais condensada. Observa-se que os valores obtidos para os HA/método proposto e HA/IHSS são muito próximos, indicando nesse caso um certo grau de aromaticidade muito similar para ambas as amostras de HA analisadas. Já a razão O/C é um indicativo de carboidratos e ácidos carboxílicos presentes na macromolécula húmica e pode ser também usado para comparar HS de diferentes localidades. Como também pode ser verificado, os valores obtidos em ambos os casos são muito próximos e esses baixos valores encontrados para ambas as amostras de HA indicam uma concentração relativamente baixa de oxigênio ligado a grupamentos alquílicos e de ácidos carboxílicos. Segundo Ibarra *et al.*¹¹⁶ uma diminuição na razão O/C significa um aumento no número de anéis condensados.

A razão C/N para ambas as amostras de HA está acima de 20 indicando, portanto, um alto grau de humificação dessas substâncias.

Pode-se verificar que os resultados obtidos para ambas as amostras de HA são compatíveis ao que se espera para um material húmico extraído de um solo tipo turfa, pois nesses solos o grau de humificação da matéria orgânica é geralmente alto.

As amostras de HA obtidas tanto pelo método proposto como pelo método da IHSS, apresentam um teor de cinzas relativamente alto, como pode ser verificado na Tabela 1.7.

Tabela 1.7 Determinação do teor de cinzas (material inorgânico) para as amostras de HA.

Amostra	% MO	% cinzas	% Rendimento
HA/ IHSS	64,94	34,06	11,00
HA/mét. Proposto	75,71	24,29	35,58

Deve-se ressaltar que o HA/método proposto não passou por nenhuma etapa de purificação após a extração alcalina, sendo em seguida seco a temperatura de 40 °C. Entretanto, o HA/IHSS passou pelos processos de purificação propostos pelo método da IHSS, o que justifica o baixo valor no rendimento de extração, mas ainda apresenta um elevado teor de cinzas em comparação ao HA/método proposto. Esses resultados indicam que a proposição de utilizar como solução extratora carbonato de sódio juntamente com solução de hidróxido de sódio, parece ser adequada, pois como anteriormente mencionado, cátions metálicos divalentes e trivalentes presentes nas amostras de solos são precipitados na forma de seus respectivos carbonatos e/ou hidróxidos, liberando a fração húmica para a fase solúvel possivelmente isenta desses contaminantes. Ao adicionar solução de NaOH, esse extrator estaria auxiliando em uma maior remoção das HS. Entretanto, para ambas as amostras de HA o teor de cinzas ainda está relativamente alto, considera-se uma amostra de HA purificada quando seu teor de cinzas está em torno de 1-3 %. O método de extração da IHSS recomenda que todo o processo de purificação do HA seja repetido até se obter um HA com teor de cinzas inferior a 1 %. O valor encontrado para o teor de cinzas na amostra de HA/método proposto é relativamente menor quando comparado ao HA/IHSS, indicando que o tempo de extração pode ter contribuído também para esse menor teor. Conforme mencionado anteriormente, verificou-se que um tempo de extração em torno de 40 min é o suficiente para uma significativa remoção da MO contida nesses solos. Além do que, esse menor tempo evita um ataque do álcali pela sílica.

As cinzas obtidas de ambas as amostras de HA foram dissolvidas em solução de HCl 2,0 mol L⁻¹ e uma análise semi-quantitativa por espectrometria de emissão óptica em plasma induzido, ICP OES, foi efetuada. Verificou-se um elevado teor, ou seja, acima de 70 mg L⁻¹ para os seguintes elementos: Na⁺,

K^+ , Si^+ , Al^{3+} e Fe^{3+} , sendo que a concentração desses elementos de uma amostra para outra foi relativamente constante. A fim de melhor compreender o alto teor desses elementos encontrados nas cinzas das amostras de HA, uma análise também foi realizada no solo turfa. Dessa forma, o solo turfa passou por um processo de digestão¹¹⁷ e a solução obtida também foi analisada por ICP OES. Verificou-se também um alto teor para os mesmos elementos encontrados nas cinzas dos HA, principalmente para silício, alumínio e ferro.

Dessa forma, o processo de purificação para os HA proposto pela IHSS, empregando uma solução ácida mista contendo HCl/HF se aplica perfeitamente nesse caso, pois o HF dissolve a sílica presente nessas amostras, formando um complexo gasoso com o silício, e também complexa cátions polivalentes solúveis como ferro e alumínio. Já a solução de HCl é útil na redução de carbonatos/silicatos. Na Tabela 1.8 pode-se observar uma significativa redução do teor de cinzas obtido após as amostras de HA serem submetidas ao processo de purificação, empregando a proporção HA:solução ácida de 1:10 m/v. Dessa forma, verificou-se que a remoção das impurezas é eficientemente realizada em uma única etapa. Nota-se que o aquecimento brando foi efetivo, provavelmente por auxiliar na melhor remoção dos complexos gasosos formados com o flúor.

Tabela 1.8 Determinação do teor de cinzas após processo de purificação para as amostra de HA/método proposto.

HA/mét. Proposto	% MO	% cinzas
Purificação com aquecimento	98,55	1,45
Purificação sem aquecimento	96,73	3,27

Essa etapa de purificação foi efetuada uma única vez, obtendo-se amostras de HA altamente purificadas.

O rendimento de extração obtido para o método de extração proposto depois de finalizada a etapa de purificação, está em torno de 23 %, ou seja, observa-se uma redução apreciável considerando-se que o rendimento anterior ao processo de purificação estava em torno de 36 %. Ou seja, houve uma

perda significativa da amostra, entretanto o rendimento de extração obtido ainda é maior que o rendimento obtido pela IHSS.

1.4.3.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho

As bandas de absorção dos espectros na região do infravermelho obtidos para as amostras de HA/método proposto e HA/IHSS são semelhantes, não apresentando alterações significativas quanto à natureza dos grupamentos funcionais presentes.

Amostras de HA/método proposto purificadas com e sem aquecimento apresentaram espectros similares entre si e também ao espectro obtido para o HA/método proposto que não foi submetido ao processo de purificação. Além disso, todos os espectros obtidos foram compatíveis com os espectros encontrados na literatura para HA^{3,118}. As principais bandas de absorção que aparecem nos espectros dos HA podem ser observadas nas Figuras 1.4, 1.5, 1.6 e 1.7, foram:

- 1 – estiramento de O-H de silicatos, na região de 3750-3700 cm^{-1} ;
- 2 – estiramento de O-H (livre e ligado por ponte de hidrogênio) de álcoois e/ou fenóis e/ou ácidos carboxílicos e estiramento de N-H, na região de 3500-3300 cm^{-1} ;
- 3 – estiramento C-H de alifáticos, na região de 2940-2900 cm^{-1} e na região de 2850 cm^{-1} ;
- 4 – estiramento C=O de grupos carboxílicos e carbonílicos, na região de 1725-1700 cm^{-1} ;
- 5 – deformação C=C de anel aromático, deformação assimétrica de C-O de íons carboxilato, COO^- , estiramento C=O de cetonas conjugadas fortemente ligadas por ponte de hidrogênio e deformação N-H de amidas primárias, na região de 1620-1600 cm^{-1} ;
- 6 – deformação O-H, deformação C-H de grupos CH_2 CH_3 e estiramento axial simétrico de íons COO^- , na região de 1400-1370 cm^{-1} ;
- 7 – estiramento C-O e deformação O-H de grupamentos COOH ; estiramento C-O de éteres aromáticos e fenóis, na região de 1280-1200 cm^{-1} ;
- 8 – estiramento C-O de álcoois e/ou fenóis e/ou carboidratos, na região de 1170-950 cm^{-1} ;

9 – estiramento Si-O e vibrações de Si-H indicando impurezas de silicatos, deformação fora do plano da ligação C-H de anéis aromáticos, na região de 950-800 cm^{-1} ;

10 – deformação axial de silício e halogênios, na região de 1000-666 cm^{-1} ; as deformações axiais de Si-Cl ocorrem em frequências inferiores a 666 cm^{-1} .

*As bandas que aparecem entre as regiões de 2359 e 2341 cm^{-1} são causadas pela presença de CO_2 .

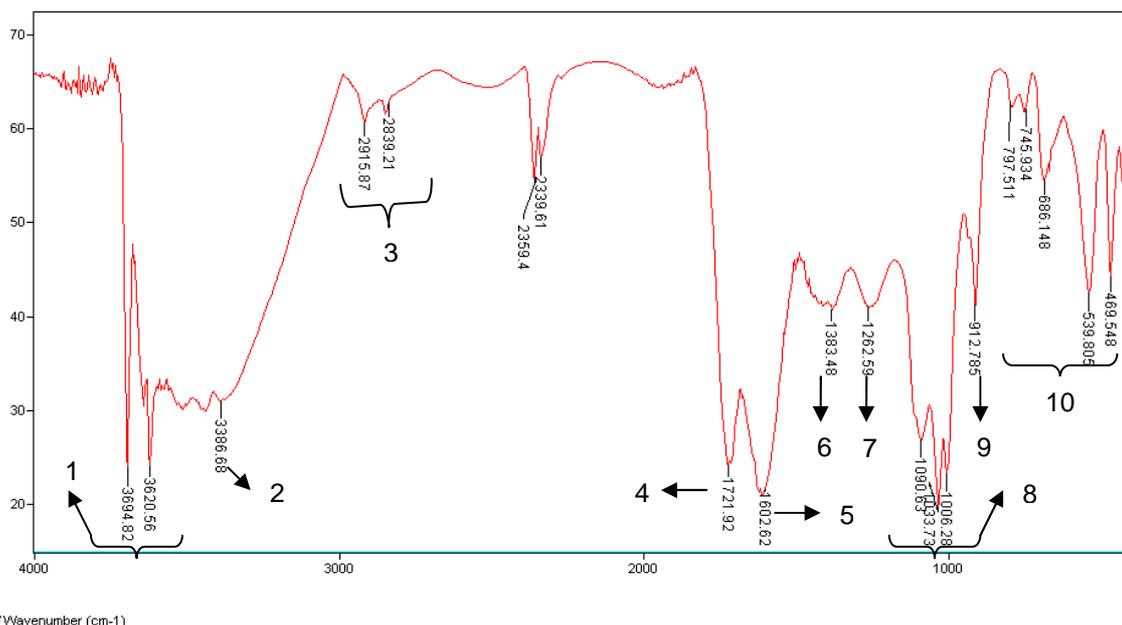


Figura 1.4 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método sugerido pela IHSS.

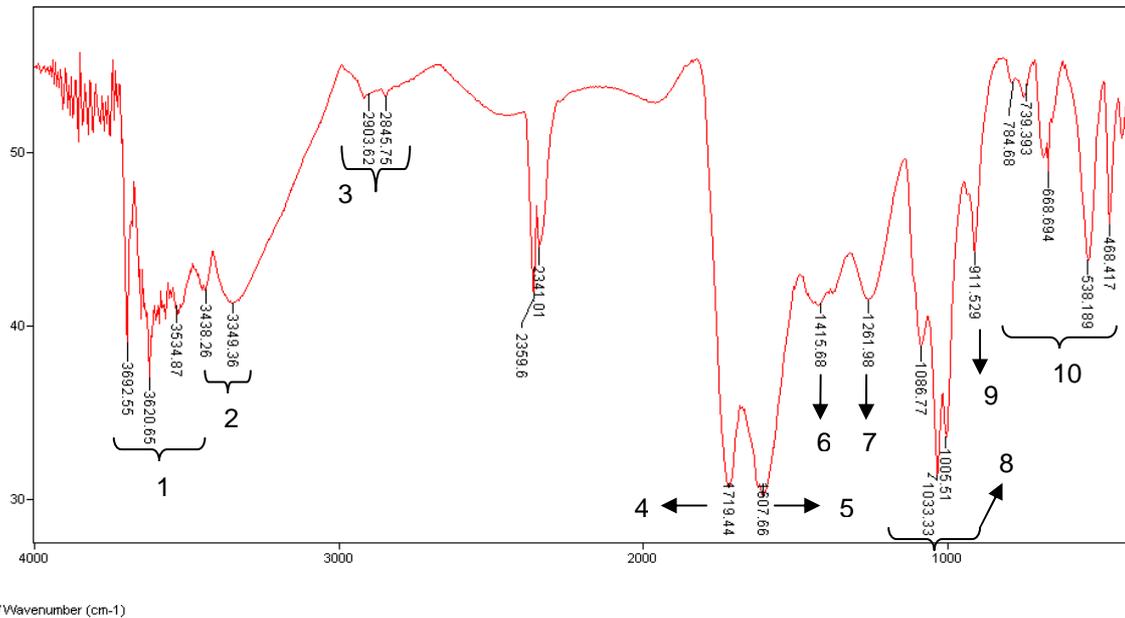


Figura 1.5 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto empregando soluções de ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaOH}$).

Os espectros obtidos para ambas as amostras de HA mostram praticamente as mesmas freqüências de absorção característica da molécula de HA, variando-se na intensidade em que essas freqüências são absorvidas pelos diversos grupos funcionais presentes nessas duas amostras. Como pode ser observado nas Figuras 1.4 e 1.5 ambos os espectros de HA extraídos pelos diferentes métodos aqui empregados, apresentaram um perfil muito similar. Contudo, pode ser verificado também que, ambas as amostras contêm contaminantes, apresentando em ambos os espectros a presença de diversos picos na região de comprimento de onda inferior a 900 cm^{-1} , como acima referenciado nas respectivas posições das bandas de absorção. Os espectros obtidos para as amostras de HA/método proposto purificadas com e sem aquecimento são mostrados a seguir.

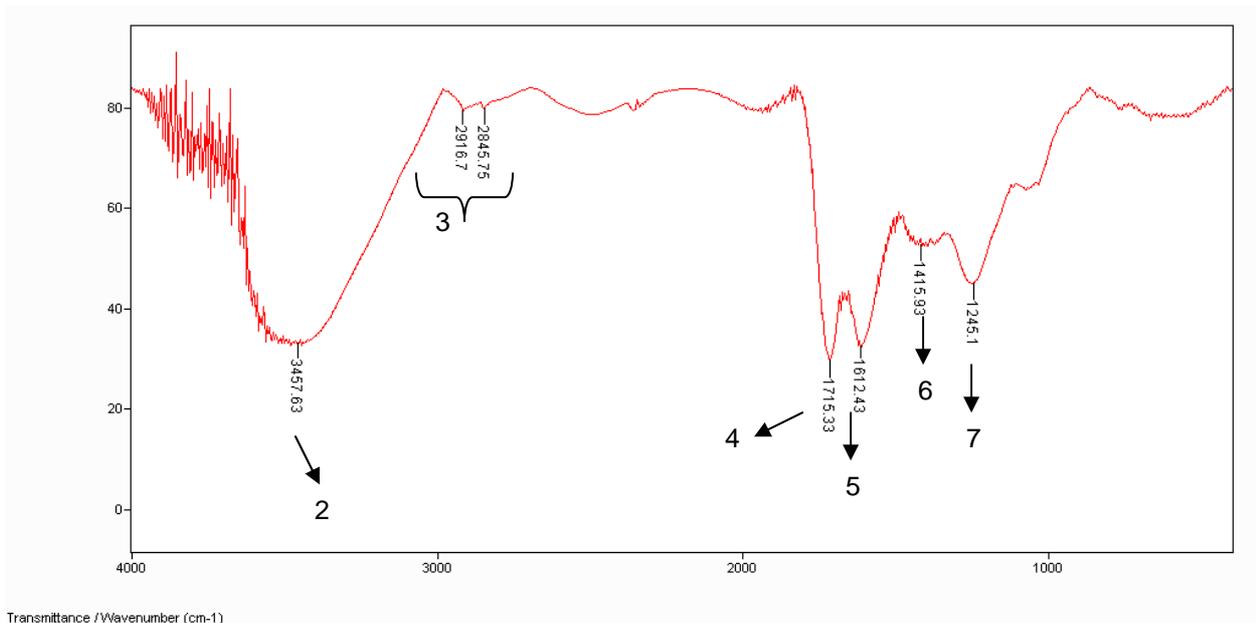


Figura 1.6 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA/método proposto purificado sem aquecimento.

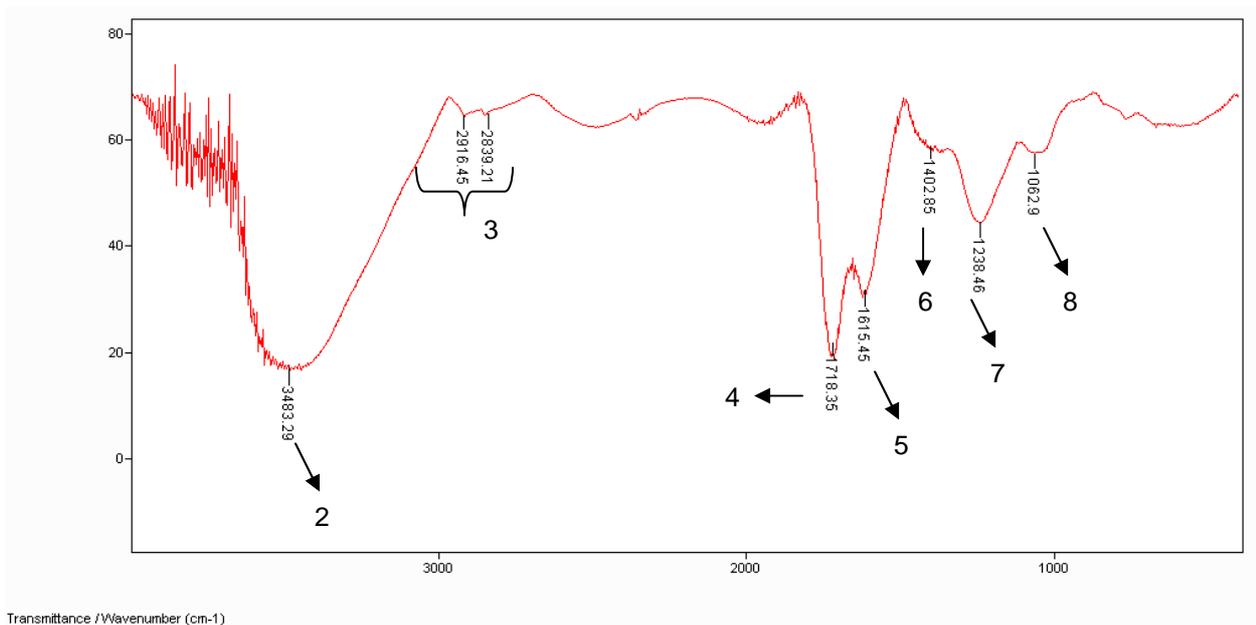


Figura 1.7 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA/método proposto purificado com aquecimento.

Para as amostras de HA/método proposto purificadas, uma banda relativamente larga na região de 3400 cm^{-1} pode ser visualizada. Contudo, outras bandas correspondentes às regiões entre $3700\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$, como verificado nas Figuras 1.4 e 1.5, não foram visualizadas. As bandas de

absorção correspondentes às vibrações de impurezas de silicatos, isto é, na região inferior a 900 cm^{-1} não apareceram nas amostras de HA purificadas, indicando a remoção dessas impurezas. Verificou-se também que o efeito do aquecimento brando da amostra de HA não provocou alterações no espectro. Este aspecto é positivo, pois o aquecimento influenciou significativamente na melhor remoção dos contaminantes inorgânicos, como expresso pelo valor do teor de cinzas encontrado. Outras análises para a caracterização do HA foram realizadas nessas amostras purificadas, a fim de melhor verificar se ocorrem ou não modificações na estrutura do HA causadas pelo aquecimento. Caso seja evidenciado que a estrutura da molécula de HA não sofreu alterações, a sugestão em aquecer a suspensão (HA + solução ácida) é favorável, ao invés de somente agitar essa suspensão na etapa de purificação, como proposto pela IHSS.

1.4.3.3 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Análises de ^{13}C -NMR a fim de se obter informações sobre a composição dos grupamentos funcionais presentes nas amostras de HA/método IHSS e HA/método proposto purificado com aquecimento foram efetuadas e os espectros estão mostrados na Figura 1.8.

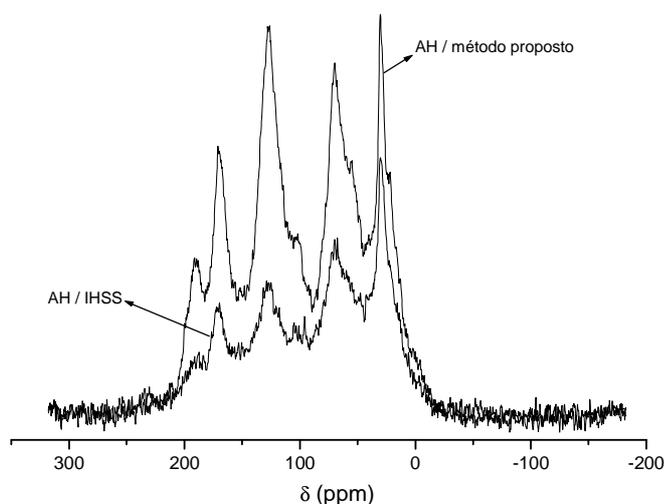


Figura 1.8 Espectros de ^{13}C -NMR para amostras de HA método IHSS e método proposto purificado com aquecimento.

Empregando-se NMR pode-se identificar grupos funcionais que possibilitam caracterizar a estrutura das HS. O espectro de ^{13}C -NMR de uma amostra de HA ou FA, fornece um inventário de diferentes componentes dos quais o material é composto. O espectro de ^{13}C -NMR para as amostras de HA obtidas por ambos os métodos de extração foi dividido em 7 regiões químicas diferentes³, sendo elas:

- 1) 0 - 45 ppm: carbonos de grupos alifáticos simples (CH_2 , CH_3);
- 2) 45 - 60 ppm: carbonos de grupos N-alifáticos e metoxílicos;
- 3) 60 - 110 ppm: carbonos de grupos O-alifáticos;
- 4) 110 - 140 ppm: carbonos de grupos aromáticos;
- 5) 140 - 160 ppm: carbonos de grupos fenólicos;
- 6) 160 - 185 ppm: carbonos de grupos carboxílicos;
- 7) 185 - 230 ppm: carbonos de carbonila.

Para cada espectro de RMN das amostras de HA obtidas por diferentes métodos de extração foi feita a integração de cada região química para o cálculo da porcentagem relativa desses grupamentos em cada amostra de HA, como mostrado na Tabela 1.9.

Tabela 1.9 Intensidades Relativas (% da área total) das bandas nos espectros de ^{13}C -NMR para a amostra de HA/método IHSS e HA/método proposto purificado com aquecimento (teor médio \pm desvio padrão, n=3).

Amostra	230-185	185-160	160-140	140-110	110-60	60-45	45-0
HA/IHSS	5,62 \pm 0,10	9,32 \pm 0,10	6,57 \pm 0,15	15,19 \pm 0,20	26,18 \pm 0,22	9,31 \pm 0,17	27,12 \pm 0,08
HA/met.prop.	6,34 \pm 0,02	11,39 \pm 0,03	6,69 \pm 0,02	21,38 \pm 0,03	25,35 \pm 0,02	8,44 \pm 0,04	20,69 \pm 0,03

- Cálculo do percentual de alifaticidade para as amostras de HA³:

$$\% \text{ Alifaticidade} = \frac{\sum \text{área sinais C alifático (0-110 ppm)}}{\sum \text{área sinais C (0-160 ppm)}} \times 100\%$$

- Cálculo do percentual de aromaticidade para as amostras de HA:

$$\% \text{ Aromaticidade} = \frac{\sum \text{área sinais de C aromáticos (110-160 ppm)}}{\sum \text{área sinais C (0-160 ppm)}} \times 100\%$$

Os valores para o resultado dos percentuais de alifaticidade e aromaticidade para as amostras de HA estão apresentados na Tabela 2.0.

Tabela 2.0 Valores percentuais de alifaticidade e aromaticidade para as amostras de HA obtidas por diferentes métodos de extração.

Amostra	% Alifaticidade	% Aromaticidade
HA/IHSS	74,21	25,79
HA/mét.proposto	66,00	34,00

A partir dos valores de porcentagem da intensidade relativa, pode-se verificar que na região correspondente ao deslocamento químico de 0-110 ppm, ambas as amostras de HA apresentam valores muito próximos. Esses resultados indicam que os HA extraídos, empregando ambos os métodos de extração, apresentam uma estrutura molecular menos condensada, ou seja, uma estrutura mais aberta, pois nessa região considerada há predominância de grupamentos menos aromáticos. Contudo, como pode ser verificado na Tabela 2.0, o teor de alifaticidade encontrado para o HA/IHSS é maior ao HA/método proposto, indicando possivelmente uma estrutura menos condensada quando comparado ao HA/método proposto. Quanto ao grau de aromaticidade, região 110-160 ppm, a amostra de HA/método proposto apresenta valores

relativamente maiores quando comparado a amostra de HA/IHSS, com exceção na região entre 160-140 ppm, onde os valores são muito próximos. Contudo, maiores valores encontrados para o HA/método proposto indicam a predominância de grupamentos mais condensados, como por exemplo, a presença de anéis aromáticos na estrutura dessa macromolécula. Esses resultados também estão de acordo com o teor de aromaticidade encontrado para o HA/método proposto, sendo esse maior que o valor obtido para o HA/IHSS. Portanto, pode-se afirmar que o método de extração proposto fornece um HA cuja estrutura molecular é mais ramificada ou condensada que o HA obtido pelo método sugerido pela IHSS. Uma diminuição na porcentagem relativa da região correspondente a carbonos alifáticos oxigenados e um aumento da porcentagem relativa na região dos carbonos aromáticos indicam um avançado estágio de humificação característico de HA, como é verificado para a amostra de HA/método proposto. Possivelmente o procedimento de extração proposto extraiu o material húmico apresentando menor alteração à sua estrutura original que o método da IHSS. Pois como pôde ser verificado a MO presente nesse solo turfa analisado apresenta um elevado estágio de degradação/humificação. Um alto grau de decomposição geralmente indica uma estrutura de HS mais condensada, ou menos alifática. Contudo, uma observação importante deve ser destacada, pois analisando-se separadamente as amostras de HA, verificou-se que para ambas as amostras a alifaticidade da molécula é relativamente maior que sua aromaticidade. Ou seja, ambas as amostras apresentam uma estrutura menos condensada, entretanto quando essas amostras são comparadas entre si, verifica-se que o HA extraído pelo método proposto apresenta uma estrutura mais condensada que o HA/IHSS.

Em relação a intensidade na região de grupamentos carboxílicos, região 185-160 ppm, pode-se verificar que o HA/método proposto apresenta maior valor em comparação ao HA/IHSS, indicando maior presença desses grupamentos na estrutura do HA/método proposto. Quanto à presença de carbonos de carbonila, região 230-185 ppm, os valores encontrados para ambos os HA são próximos, indicando um teor similar desses grupamentos nessas amostras.

1.4.3.4 Análise por Espectrofotometria UV-Visível, Razão E_4/E_6

Em função da grande quantidade e variabilidade de grupos cromóforos existentes nas moléculas húmicas, os espectros obtidos por absorção de radiação na região do visível são geralmente formados pela sobreposição de várias bandas, sem máximos definidos, apresentando absorção decrescente com o aumento do comprimento de onda. Sabe-se que a absorbância das HS no visível é influenciada pelo pH, tipo de solvente e concentração salina do meio. Muitos pesquisadores opinam que a cor escura das HS é devido principalmente a existência de cromóforos na forma ceto e enol³.

A Figura 1.9 apresenta os espectros de absorção na região 450-700 nm para as amostras de HA extraídas pelo método do IHSS e pelo método proposto.

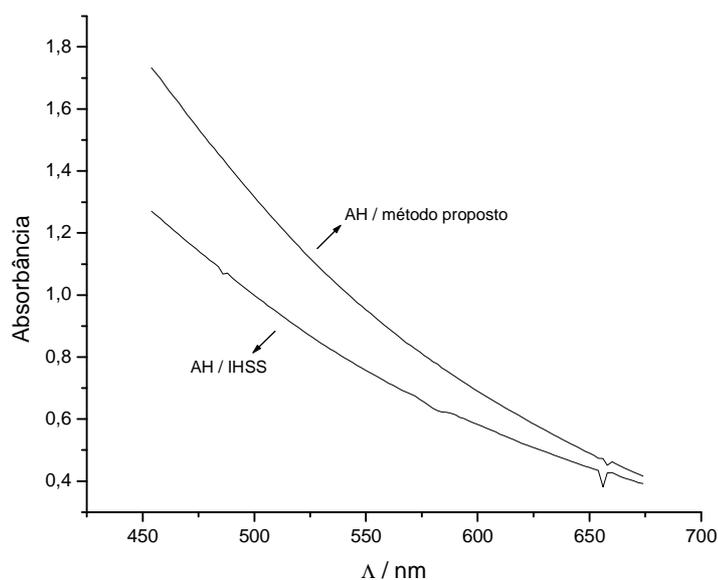


Figura 1.9 Espectros de absorção molecular na região de 450-700 nm para as amostras: HA/método IHSS e HA/método proposto.

Verifica-se na Figura 1.9 que para ambas as amostras de HA ocorreu uma diminuição da intensidade de absorção em função do aumento do comprimento de onda. Contudo, a intensidade da absorbância medida para a amostra de HA/método proposto é relativamente maior em comparação ao HA/IHSS. Essa diferença observada nas intensidades das absorbâncias medidas pode estar relacionada aos diferentes teores de cinzas encontrados em ambas as

amostras de HA. Ou seja, para o HA/método proposto por apresentar um menor teor de cinzas, a macromolécula húmica absorveu com maior intensidade a radiação UV emitida pelo equipamento. Já o HA/IHSS absorveu a radiação UV emitida em menor intensidade comparado ao HA/método proposto, onde o teor de cinzas encontrado foi maior. Pelos valores obtidos de absorvância nos comprimentos de ondas de 465 e 665 nm pode-se determinar a razão E_4/E_6 . Essa razão está relacionada ao sistema π da molécula húmica e permite, em alguns casos, uma avaliação relativa da massa molar das amostras. Quanto menor essa razão, maior será a liberdade eletrônica do sistema, o qual demonstra que a molécula possui maior quantidade de cadeias aromáticas conjugadas. Os valores da razão E_4/E_6 obtidos para a amostra de HA/IHSS foi de 3,05 enquanto que para o HA/método proposto foi de 2,81, estando próximos ao da literatura, sendo que para HA de solos o valor da razão E_4/E_6 varia de 3,0-5,0. A partir dos valores obtidos para a razão E_4/E_6 pode-se verificar que ambas as amostras apresentam valores muito próximos, estando em torno de 3,0. Assim, esses baixos valores indicam um aumento tanto na sua massa molar, como também uma maior condensação dos carbonos aromáticos, elevando assim o teor aromático dessas macromoléculas. Já maiores valores para a razão E_4/E_6 implica na maior presença de grupamentos alifáticos, responsáveis por uma estrutura menos condensada, o que não é verificado nessas amostras de HA extraídas por ambos os métodos de extração empregados.

Portanto, como pôde ser verificado pelas técnicas analíticas empregadas, sugere-se que a estrutura molecular do HA/método proposto apresenta um teor aromático relativamente maior à molécula de HA extraída pelo método IHSS.

1.4.4 Aplicação do Método Proposto para a Extração das HS em Outros Solos

O solo utilizado para a continuidade dos estudos de extração das HS é proveniente de uma fazenda da cidade de Pedra Azul M.G., em depressão situada em planalto com cerrado denso, a 800 m de altitude. Analisado por engenheiro agrônomo, é classificado como sendo Latossolo Amarelo Húmico

Álico, apresentando um teor de MO em torno de 7 % superior aos teores normalmente encontrados em solos de chapadas. Optou-se pela utilização desse solo devido à isenção de herbicidas e agrotóxicos no local de coleta, e por ser um solo que durante o período chuvoso sofre algum alagamento, favorecendo o desenvolvimento de gramíneas nativas, cujo ciclo vegetativo leva ao acúmulo de MO resultante, nesse caso, da decomposição de restos de plantas, dando-lhe aspecto enegrecido típico de solo turfoso. O solo aqui empregado será denominado de PZA nos capítulos subsequentes.

Outro solo empregado nas análises foi um solo turfoso, proveniente de uma turfeira da cidade de Luís Antônio, S.P., na bacia do rio Mogi-Guaçú, entretanto esse solo foi coletado em áreas não alagadas, ou seja, distante ao rio. Esse solo foi gentilmente cedido pelos grupos de pesquisas da Profa. Eny Vieira (Instituto de Química de São Carlos – USP) e também do Prof. Luís Di Bernardo (Departamento de Engenharia Hidráulica – USP, São Carlos).

O teor de umidade encontrado para o solo PZA está em torno de 3,0 %, e a calcinação desse solo, segundo o procedimento adotado (seção 1.2.7.1, pág. 56) resultou em um teor de MO em torno de 9,0 %. Para o solo turfa, o teor de umidade encontrado foi de aproximadamente 8,5 % e a queima resultou em um teor de MO de 22,0 %.

O método de extração das HS proposto foi aplicado nesses dois tipos de solos e o rendimento de extração é mostrado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Teor de HA extraído pelo método proposto aplicado aos solos.

Solo	Teor de HA extraído (%)
PZA	4,48
Turfa	18,43

Pode-se verificar que o solo PZA é um solo deficiente em MO, resultando em um menor teor de HA extraído, já no caso do solo turfa o teor de HA extraído é mais elevado devido a maior quantidade de MO encontrada nesse tipo de solo, como previamente verificado na análise de teor de cinzas. No caso do solo turfa, o rendimento de extração foi relativamente menor que o encontrado anteriormente para o solo turfa coletado na mesma bacia do rio

Mogi-Guaçú, entretanto as margens do rio. Os resultados indicaram que esse solo contém maior teor de MO, devido provavelmente as condições ambientais, pois esse solo estava próximo ao rio, o que o torna úmido e quente; gerando um ambiente propício para a germinação de sementes de plantas em geral. O que provavelmente pode diferir do solo turfa que foi coletado distante do rio Mogi-Guaçú.

As amostras de HA obtidas foram posteriormente caracterizadas empregando calcinação, FT-IR e ^{13}C -NMR.

1.4.5 Caracterização das amostras de HA

1.4.5.1 Teor de Cinzas e Matéria Orgânica

Os teores de MO e cinzas estão apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 Determinação do teor de MO e teor de cinzas (material inorgânico) encontrado nas amostras de HA.

Amostra	Teor de MO (%)	Teor de Cinzas (%)
HA/solo PZA	63,35	36,65
HA/solo turfa	96,19	3,81

Pode-se verificar que o teor de cinzas determinado nas amostras de HA aplicando-se o método proposto é baixo para o solo turfa, já para o solo PZA o teor de cinzas ainda é um inconveniente. Contudo, a etapa de purificação para ambos os HA foi realizada uma única vez. No caso do solo PZA, esse por não apresentar um teor relativamente alto de MO, possivelmente deve conter altos teores de metais como ferro, por exemplo, pois após a calcinação do HA as cinzas apresentavam uma coloração vermelha intensa. Outros metais ou substâncias podem também estar presentes nesse solo contribuindo para esse elevado teor de cinzas.

1.4.5.2 Análise por Espectroscopia de Infravermelho

Nas Figuras 2.0 e 2.1 são mostrados os espectros de infravermelho para as amostras de HA.

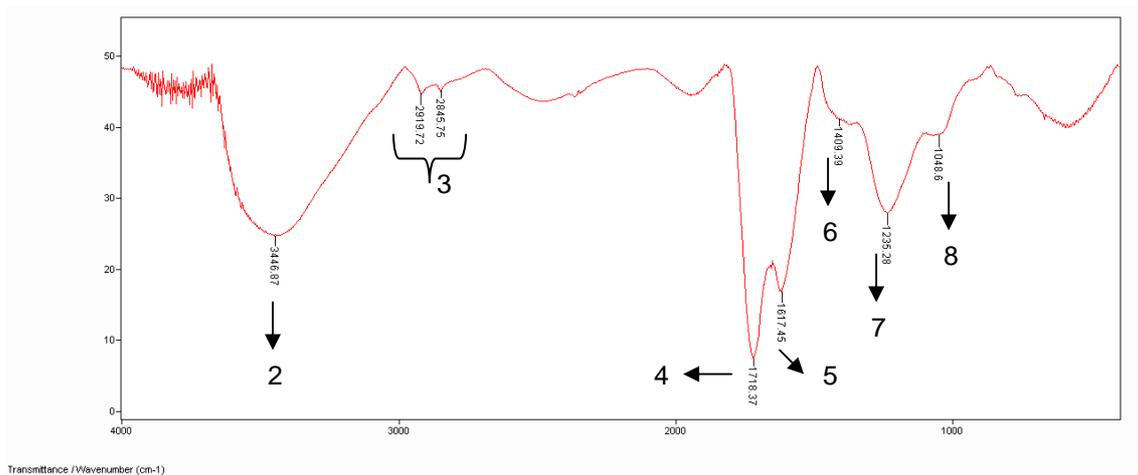


Figura 2.0 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto aplicado ao solo turfa.

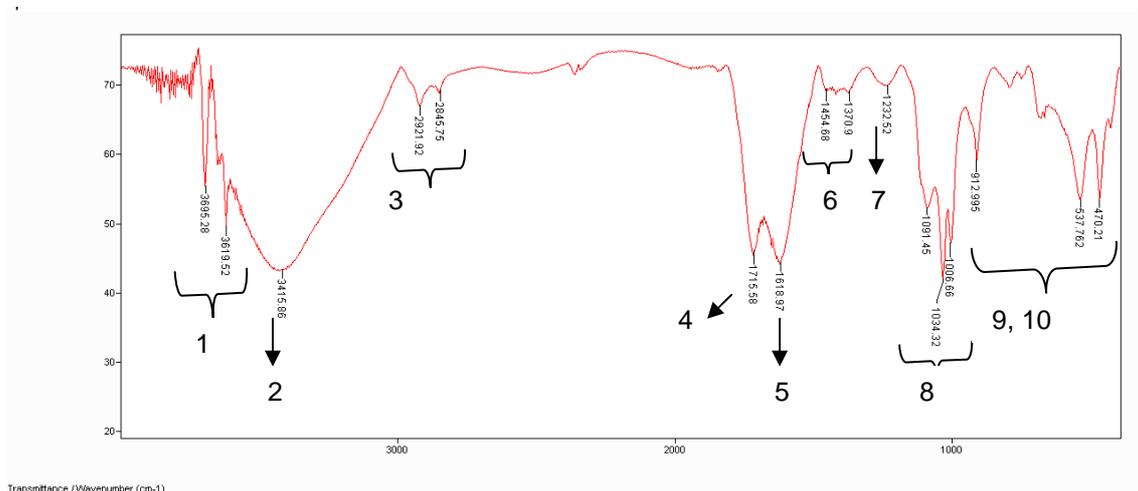


Figura 2.1 Espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de HA extraído pelo método proposto aplicado ao solo PZA.

Como pode ser verificado pelos espectros obtidos, ambas as amostras de HA apresentam bandas de absorção características, contudo para o HA/solo PZA as bandas que aparecem na região abaixo de 912 cm^{-1} , indicam a presença de impurezas nessa amostra. Os valores das bandas de absorção e seus respectivos grupamentos estão detalhadamente descritos na seção 1.4.3.2, página 74.

1.4.5.3 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ^{13}C -NMR foram divididos em 7 regiões químicas diferentes, como feito na seção 1.4.3.3, página 78, e a figura 2.2 mostra os espectros obtidos para as amostras de HA.

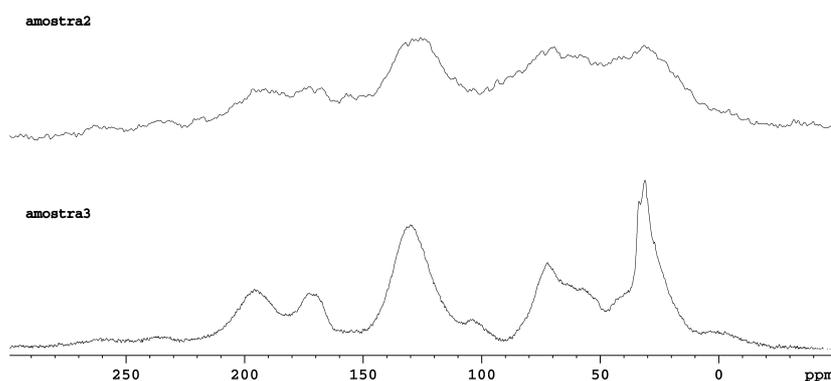


Figura 2.2 Espectros de ^{13}C -NMR para amostras de HA aplicando-se o método proposto ao solo PZA e ao solo turfa.

Para cada espectro de RMN das amostras de HA foi feita a integração de cada região química para o cálculo da porcentagem relativa dos grupamentos presentes em cada amostra de HA. Assim, pôde-se calcular os percentuais de alifaticidade e aromaticidade dessas moléculas de HA e os valores encontrados estão mostrados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 Teores percentuais de alifaticidade e aromaticidade para as amostras de HA.

Amostra	% Alifaticidade	% Aromaticidade
HA/solo PZA	67,34	32,66
HA/solo turfa	63,11	36,88

Verifica-se que os valores para alifaticidade e aromaticidade são relativamente próximos, entretanto a molécula de HA/solo turfa apresenta uma aromaticidade ligeiramente maior que a molécula de HA/PZA. Assim, a partir

dos resultados observa-se que a MO presente em solo turfa apresenta um maior grau de humificação que a MO presente no solo PZA. Conforme anteriormente mencionado, um maior teor aromático da macromolécula húmica indica que essa molécula apresenta uma estrutura mais condensada, como consequência do maior grau de humificação do material orgânico.

Desta forma, pode-se concluir que o tipo de solo influencia significativamente no material extraído e também no rendimento de extração das HS, assim como já verificado por Dick *et al.*⁴².

1.4.6 Determinação dos Valores de pK's Correspondentes a cada Grupamento Ácido Titulável em amostras de HA em Força Iônica Ajustada para 0,50 mol L⁻¹

Para a detecção dos grupamentos ácidos tituláveis e a estimativa dos valores de pK's correspondentes a esses grupamentos presentes nas amostras de HA, empregou-se uma força-iônica constante de $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Essa condição melhora significativamente a solubilidade do HA devido aos fenômenos de dissociação e neutralização dos grupamentos ácidos presentes em sua estrutura. Isso ocorre devido a troca simultânea dos íons hidrogênio ligados à matriz orgânica (grupamentos ácidos) pelos cátions metálicos presentes na solução eletrolítica, que nesse caso é uma solução de KCl 0,50 mol L⁻¹. Dessa forma, constantes de dissociação condicional, pK's, podem ser estimadas, considerando-se que a matriz orgânica se comporta como um ácido poliprótico. De fato, durante a neutralização das HS, uma crescente densidade de carga negativa causa um decréscimo progressivo nas constantes de dissociação dos grupos carboxílicos e fenólicos remanescentes, assim como ocorre com os ácidos polipróticos. Neste trabalho, uma alta força iônica é empregada, pois a presença de qualquer cátion em excesso facilita a dissociação dos grupamentos ácidos, promovendo sua solubilidade, especialmente quando um álcali é adicionado nesse meio⁸⁹.

1.4.6.1 Calibração do Eletrodo de Vidro em Força Iônica Ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$

A calibração do eletrodo de vidro em força iônica ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com solução de KCl tanto em meio ácido como em meio alcalino pode ser observada na Figura 2.3. A solução eletrolítica mista em meio ácido, contém: HCl $0,02018 \text{ mol L}^{-1}$ /LiCl $0,1604 \text{ mol L}^{-1}$ /KCl $0,32 \text{ mol L}^{-1}$, e para o meio alcalino a solução eletrolítica é composta por: KOH $0,02013 \text{ mol L}^{-1}$ /Cl₃CCOOK $0,06002 \text{ mol L}^{-1}$ /KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$. Em ambas as soluções empregadas, tanto a concentração do HCl como a concentração do KOH estão em torno de $0,02000 \text{ mol L}^{-1}$. Essas soluções contendo aproximadamente as mesmas concentrações tanto de ácido como de base, possivelmente atenuam alterações no potencial de junção que surge com as adições (incrementos) do titulante empregado, que ocorre em escala logarítmica, isto é: 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 mL entre outros.

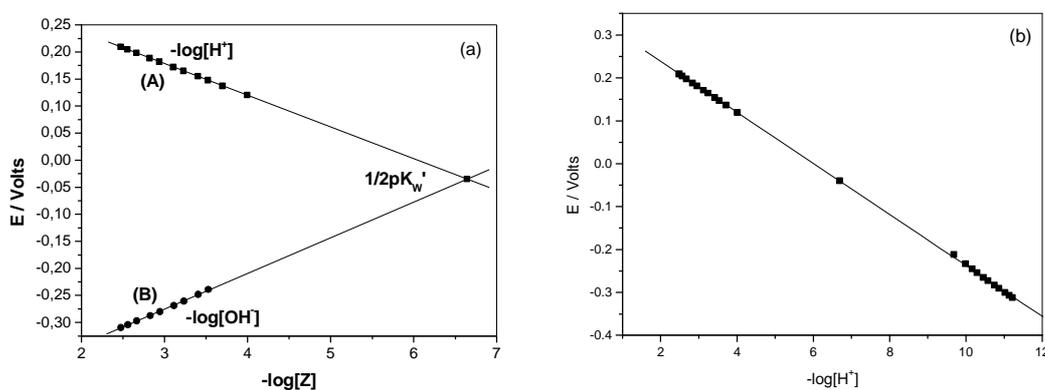


Figura 2.3 (a) Curvas de calibração para o eletrodo de vidro em força iônica ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ em meio ácido, empregando solução eletrolítica mista contendo HCl $0,02018 \text{ mol L}^{-1}$ /LiCl $0,1604 \text{ mol L}^{-1}$ /KCl $0,32 \text{ mol L}^{-1}$ e em meio alcalino empregando solução eletrolítica mista contendo KOH $0,02013 \text{ mol L}^{-1}$ /Cl₃CCOOK $0,06002 \text{ mol L}^{-1}$ /KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Onde, $Z = [\text{H}^+]$ ou $[\text{OH}^-]$. (b) Curva de Calibração para o eletrodo de vidro em força iônica ajustada para $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ na região ácida e alcalina.

Como verificado na Figura 2.3 os resultados ($p[H^+]$ ou $p[OH^-]$), obtidos da calibração do eletrodo de vidro em força iônica, $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$, referem-se à concentração iônica $[H^+]$ ou $[OH^-]$ ao invés de suas respectivas atividades iônicas. Nesse experimento o E^0 condicional obtido foi de 0,3572 V, apresentando um desvio padrão de $\pm 0,2 \text{ mV}$ em eletrólito de KCl. O valor do coeficiente angular encontrado a partir do E vs $-\log[H^+]$ foi de $-0,05942 \pm 0,00005 \text{ V}$. O ponto de intersecção entre as retas obtidas para o meio ácido como para o meio alcalino é conhecido como o ponto de neutralidade da água, sendo que a $[H^+] = [OH^-]$. Nesse ponto se obtêm o valor do produto iônico da água, ou seja, para uma $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$, sendo $pK_w' = 6,64$; próximo ao valor teórico¹¹², $pK_w' = 6,84$, referente a $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Assim, o valor de $p[OH^-]$ inicial da solução titulante em meio alcalino é de aproximadamente 1,523; descontando-se o valor estimado para o pK_w' em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$, em torno de 13,280 então o valor obtido para o $p[H^+]$ é de 11,757. O conhecimento desses valores para as titulações de HA serão úteis para se estimar os valores de pK 's referentes aos grupamentos ácidos tituláveis. Nas titulações potenciométricas das amostras de HA, o potencial E é medido com o eletrodo de vidro a cada adição do titulante, sendo posteriormente convertido para valores de $p[H^+]$ a partir da curva de calibração do eletrodo de vidro obtida em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 2.3), empregando nesse caso os programas computacionais desenvolvidos.

1.4.6.2 Titulação Potenciométrica de Ácido Cítrico e Ácido Fosfórico

Considerando um possível tratamento de afinidades protônicas em uma amostra de HA é importante encontrar modelos simplificados para se fazer um tratamento preliminar que possa garantir confiabilidade em um sistema de tratamento de dados em programa de computador desenvolvido para esta finalidade. A idéia é tratar a função de Bjerrum, número médio de ligantes, obtida em titulações potenciométricas, convertidas em função de Leden/Fronaeus e posteriormente analisadas em computador, conforme método desenvolvido neste grupo de pesquisa¹¹⁰.

Um HA devidamente purificado pode ser tratado como sendo um ácido poliprótico titulável com bases como NaOH, KOH ou Ba(OH)₂, por exemplo, contendo alguns grupos ácidos com valores de pK relativamente próximos e de difícil caracterização individual. Como modelo simplificado, o emprego do ácido cítrico e fosfórico foi bem conveniente.

O ácido cítrico apresenta três grupos carboxílicos de valores de pK próximos, diferindo menos do que normalmente ocorre em outros ácidos polipróticos. Além disso, há um grupo alcoólico, certamente muito pouco ionizável, constituindo um 4^o grupo ácido que pode ser equivalente a um grupo fenólico, apresentando valor de pK muito elevado, i.e., acima de 9. Assim, poderiam ser titulados e testados em condições de força iônica constante, separadamente, os ácidos cítrico e fosfórico como teste preliminar do programa.

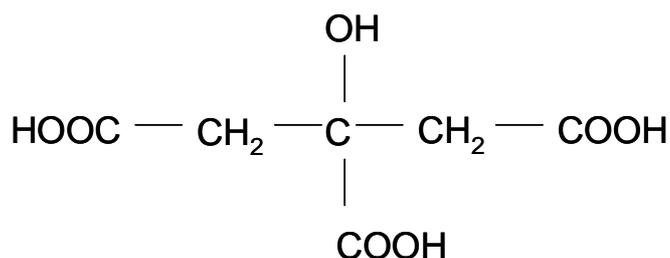


Figura 2.4 Fórmula estrutural do ácido cítrico.

Para simular uma situação mais complicada de ácido poliprótico contendo de 6 a 7 grupos ácidos e testar como modelo de apoio e aprendizagem para tratar sistemas mais complexos de HA, titulou-se também, potenciometricamente, uma mistura desses ácidos fosfórico e cítrico em força iônica 0,50 mol L⁻¹ ajustada com NaCl. Determinaram-se os valores das constantes de formação sucessiva através do uso de um extenso programa computacional em linguagem QuickBasic chamado de Complex5.BAS, desenvolvido nesse grupo de pesquisa para esta finalidade, contendo múltiplas etapas de cálculos.

Para cada titulação potenciométrica, calibrou-se o eletrodo de vidro, da mesma forma como já acima descrito, entretanto, nesse caso, com solução

interna de NaCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. O valor para o pK_w' encontrado em força iônica de NaCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ a 25°C , foi de 13,708.

Após a calibração do eletrodo de vidro, realizaram-se as titulações potenciométricas de cada ácido separadamente e depois da mistura dos dois ácidos. Os dados de potencial obtidos foram utilizados para se determinar os valores de pK' s separadamente para cada ácido e o da mistura desses ácidos, através dos valores obtidos das constantes sucessivas de formação. Na Figura 2.5 são apresentados os gráficos para o ácido cítrico e fosfórico separadamente, titulados potenciometricamente.

O comportamento do ácido fosfórico é típico: a primeira constante de ionização é sempre maior que as demais por resultar da ionização do íon H^+ a partir de uma espécie neutra, H_3PO_4 , formando o ânion H_2PO_4^- , cuja carga negativa dificulta a etapa de ionização seguinte. Resulta que K_2 é cerca de 10^5 vezes menor que o K_1 ; o aumento da densidade de carga negativa (potencial iônico) faz com que K_3 , resultante da ionização do HPO_4^{2-} sofra nova diminuição, também da ordem de 10^5 . Por isso, as duas etapas intermediárias do H_3PO_4 são bem definidas, o que não ocorre com o ácido cítrico, pois os valores de pK são muito próximos.

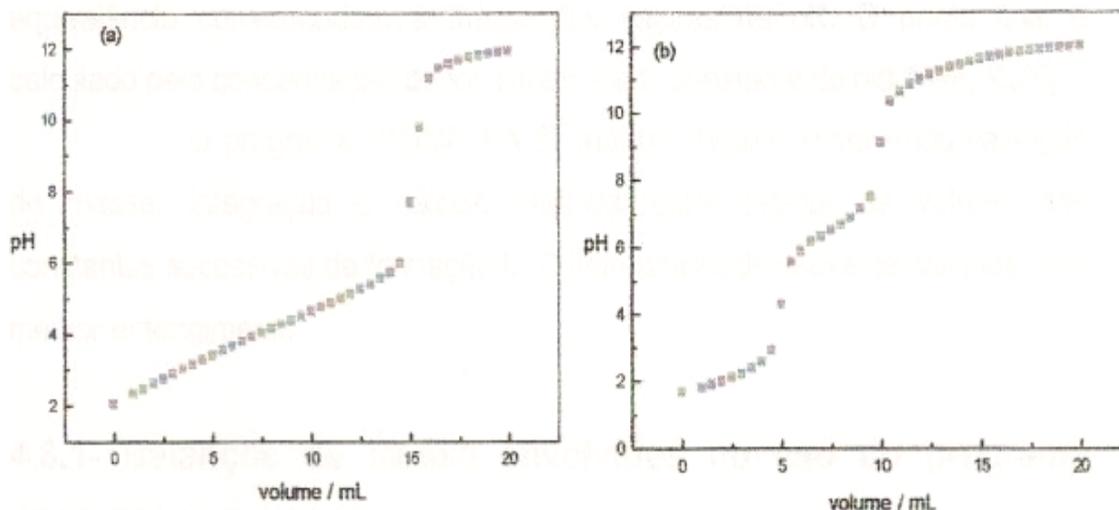


Figura 2.5 Curvas potenciométricas, pH vs volume da solução titulante de NaOH $0,2060 \text{ mol L}^{-1}$ adicionado em: (a) $19,76 \text{ mL}$ de solução de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico e (b) $19,76 \text{ mL}$ de solução de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido fosfórico, ambas as titulações realizadas em força iônica constante, ajustada com solução $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl.

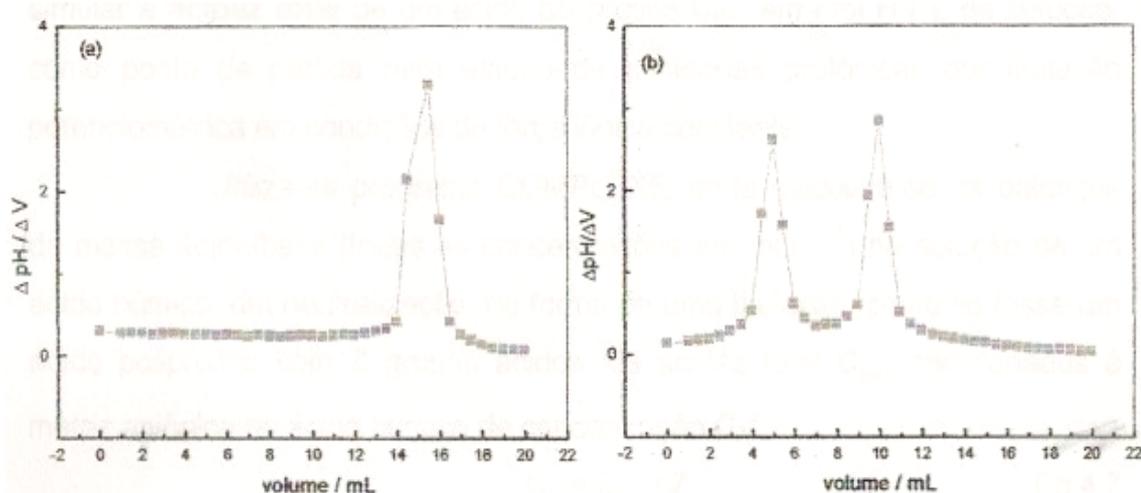


Figura 2.6 Curvas potenciométricas derivativas para as titulações realizadas em força iônica constante, ajustada com solução de $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ NaCl: (a) ácido cítrico e (b) ácido fosfórico; ambos titulados com solução de NaOH $0,2060 \text{ mol L}^{-1}$.

Os gráficos derivativos obtidos da titulação potenciométrica dos ácido cítrico e fosfórico separadamente são mostrados na Figura 2.6. A pequena diferença entre os valores de pK para o ácido cítrico afeta a curva potenciométrica, como pode ser verificado na Figura 2.5: observa-se um aumento contínuo de pH, sem definição das etapas intermediárias, cujos pontos de equivalência correspondem à média dos valores de pK. O ponto final é calculado pela concentração do íon citrato e sua constante de hidrólise, K_w/K_3 .

O programa Complex5, realiza cálculos envolvendo balanços de massa, integração e cálculo matricial para estimar os valores das constantes sucessivas de formação, β .

1.4.6.2.1 Balanços de Massa Envolvidos no Uso do Programa Complex5

Por titulação condutométrica ou mesmo potenciométrica de uma suspensão de HA ou para um outro ácido em questão, com base forte, obtém-se um valor de acidez total expressa em $\text{mol H}^+/\text{g}$ do sólido titulado. Ou seja,

uma suspensão aquosa contendo uma massa (m) expressa em gramas (g) do sólido analisado em um volume de solução, permite simular a acidez total de um ácido poliprótico C_{H+} , em mol H^+ /L de solução. Sendo um ponto de partida para estudo de afinidades protônicas por titulação potenciométrica em condições de força iônica constante.

Para cálculos subseqüentes, emprega-se o programa Complex5, onde nesse programa permite-se calcular os balanços de massa ácido/base (todas as concentrações em mol L^{-1}) na solução contendo o HA como se fosse um ácido poliprótico com Z grupos ácidos, de acidez total, C_{H+} , coordenados à matriz aniônica de ácido húmico de concentração, C_X :

$$C_{X'} = C_{H+} / Z$$

O programa realiza correções de volume como:

$$C_{Xdil} = C_X \cdot V_s / (V_s + v)$$

$$C_{H+dil} = C_{H+} \cdot V_s / (V_s + v)$$

Onde:

C_{Xdil} – concentração da matriz aniônica, coordenadora de íons H^+ , com correção de volume;

C_{H+dil} – é a concentração de íons H^+ com correção de volume;

V_s – é o volume da solução do ácido que está sendo titulada;

v – volume da base titulante adicionado

A base titulante adicionada durante a titulação potenciométrica também sofre correções de volume:

$$C_{OHadic} = C_{OH} \cdot v / (V_s + v)$$

Onde:

C_{OH} – concentração da base titulante padrão

Calcula-se então a C_{H+} coordenado a matriz, C_{H+coor}

$$C_{H+coor} = C_{H+dil} - C_{OHadic} + [OH^-] - [H^+]$$

Onde:

$[OH^-]$ – concentração de íons OH^- em equilíbrio, calculado como: $p[OH^-] = pK_w' - p[H^+]$ e substituindo em $[OH^-] = \text{antilog}(-p[OH^-])$; o valor de pK_w' é utilizado conforme o eletrólito que ajusta a força iônica do meio. Este balanço de massa é rigoroso por valer em ampla faixa de $p[H^+]$, compensando íons H^+

provenientes de ionização de grupo ácido ou pela liberação de íons OH^- devido a hidrólise de grupo em meio alcalino.

Calcula-se o valor n_m (número médio de ligantes), função de Bjerrum¹¹⁹, através da equação:

$$n_m = C_{\text{H+coor}}/C_{\text{Xdil}}$$

Define-se então uma curva de formação referente à coordenação de íons H^+ à matriz do ácido, n_m vs $[\text{H}^+]$, este sendo o ligante na concentração em equilíbrio, proveniente da medida experimental de $\text{p}[\text{H}^+]$ em cada ponto da curva de titulação.

A integração inicia-se com os menores valores de n_m , lado alcalino da curva de titulação, muito próxima ao ponto estequiométrico da acidez total. A primeira estimativa do número de coordenação é então informada para obter os valores da função de Fronaeus, $F_0(\text{H}^+)$, depois da integração de n_m vs $\log[\text{H}^+]$. Um segundo passo do programa reagrupa com devido peso as equações simultâneas por processo de mínimos quadrados e calcula o β_n por cálculo matricial, por processo desenvolvido anteriormente¹¹⁰. O programa então fornece os valores das constantes de formação sucessivas, β_z para os Z grupos ácidos ($n=1,2,\dots,Z$) detectados na análise dos dados da titulação com base.

Para os ácidos fosfórico e cítrico titulados separadamente com NaOH/NaCl em força iônica $0,50 \text{ mol L}^{-1}$, os valores de pK encontrados estão apresentandos na Tabela 2.4 abaixo:

Tabela 2.4 Valores estimados de K_a' , pK_a' e valor de pK_a encontrado na literatura para o ácido fosfórico¹²⁰ e cítrico¹²¹.

Ácido	K_a' estimado	pK_a' estimado	pK_a literatura
Fosfórico	$K_1' = (1,77 \pm 0,12) \times 10^{-2}$	$\text{pK}_1' = 1,75 \pm 0,03$	$\text{pK}_1' = 1,88$
	$K_2' = (3,48 \pm 0,21) \times 10^{-7}$	$\text{pK}_2' = 6,46 \pm 0,03$	$\text{pK}_2' = 6,47$
	$K_3' = (6,54 \pm 0,02) \times 10^{-12}$	$\text{pK}_3' = 11,20 \pm 0,02$	$\text{pK}_3' = 11,24$
Cítrico	$K_1' = (1,93 \pm 0,04) \times 10^{-3}$	$\text{pK}_1' = 2,71 \pm 0,01$	$\text{pK}_1' = 2,81$
	$K_2' = (6,57 \pm 0,05) \times 10^{-5}$	$\text{pK}_2' = 4,180 \pm 0,004$	$\text{pK}_2' = 4,16$
	$K_3' = (7,04 \pm 0,15) \times 10^{-6}$	$\text{pK}_3' = 5,15 \pm 0,01$	$\text{pK}_3' = 5,32$

Pode-se estimar os valores da constante de dissociação de ácidos fracos K' convertendo β_z em K' .

Por exemplo:

$$K_3' = 1/\beta_1 \quad K_2' = \beta_1/\beta_2 \quad K_1' = \beta_2/\beta_3$$

Com os valores das constantes de dissociação calculam-se os valores de pK' para os ácidos fosfórico e cítrico, como mostrado na Tabela 2.4. Os valores de pK_a' modificam-se um pouco em relação aos valores K' da literatura pelo efeito da força iônica. Mesmo assim, os valores estimados de pK_a' são próximos dos encontrados na literatura e o número de espécies foi igualmente definido.

A titulação potenciométrica da mistura dos ácidos fosfórico e cítrico revelou seis valores de K_a' , como já esperado. Na Figura 2.7 é apresentado os gráficos obtidos da titulação potenciométrica da mistura dos ácidos fosfórico e cítrico. Como pode ser verificado apenas um pico potenciométrico derivativo referente a etapa de neutralização do 3º grupo carboxílico do ácido cítrico, onde o pH sobe acentuadamente com excesso de hidróxido de sódio, entrando na região de neutralização de grupamentos menos ácidos. Com a ampliação da região mostrada na Figura 2.7, verifica-se alguma definição das etapas intermediárias de neutralização, não perceptível no gráfico 2.7(b).

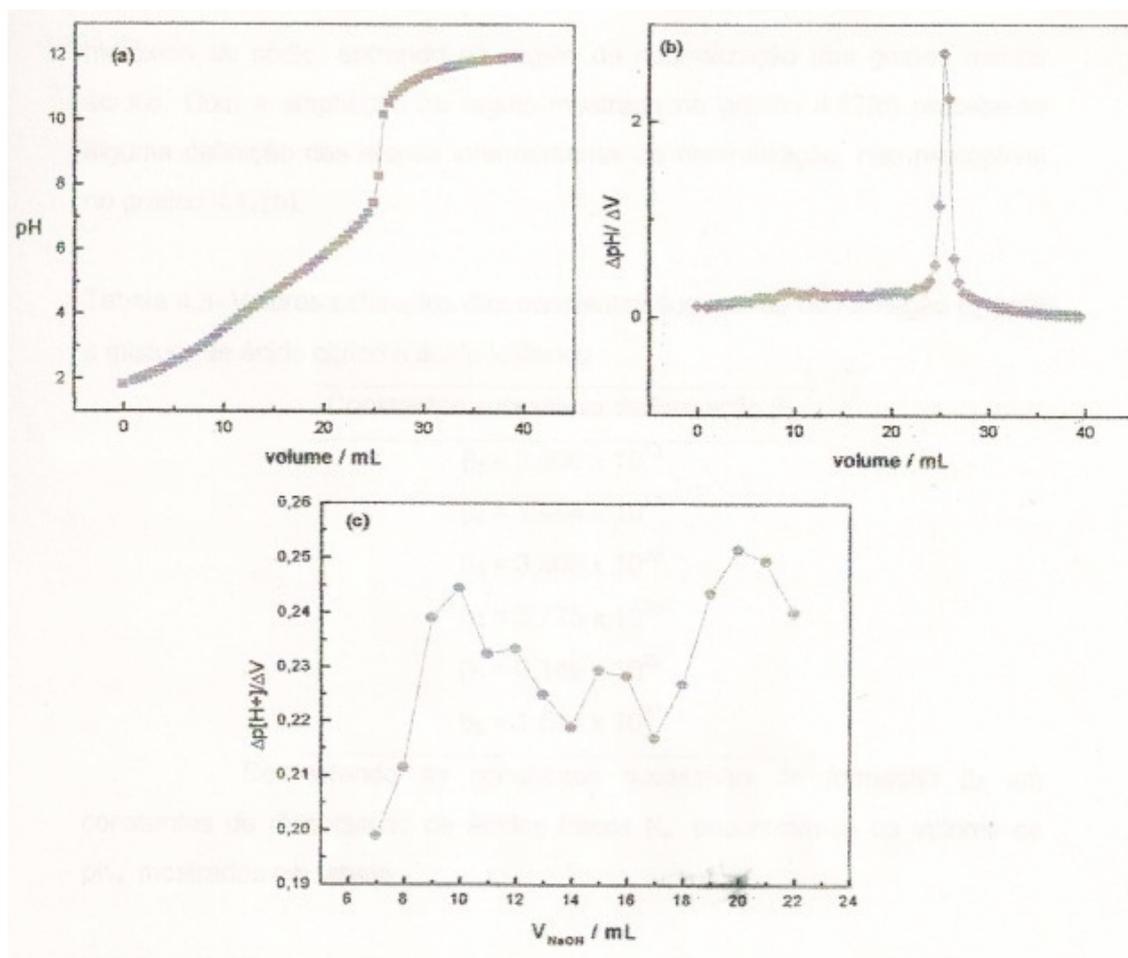


Figura 2.7 Curvas potenciométricas referentes à titulação da mistura de ácido cítrico e fosfórico em força iônica constante, ajustada com solução $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl. (a) curva potenciométrica, pH vs volume de NaOH $0,2036 \text{ mol L}^{-1}$; (b) curva potenciométrica derivativa em relação ao gráfico (a); e (c) curva potenciométrica derivativa em região ampliada de 7 a 22 mL do volume de NaOH $0,2036 \text{ mol L}^{-1}$ adicionado.

Convertendo as constantes sucessivas de formação β_z em constantes de dissociação de ácidos fracos K_a' encontram-se os valores de $\text{p}K_a'$, como mostrado na Tabela 2.5.

Tabela 2.5 Valores de pK_a' estimados em titulação potenciométrica do ácido cítrico e fosfórico titulados separadamente, da mistura dos ácidos fosfórico e cítrico e valores de pK_a para esses ácidos encontrados em literatura.

Ácido	Titulação separada	Titulação mistura	Valores literatura
Fosfórico	$pK_a = 1,75$	$pK_1 = 1,68$	$pK_1 = 1,88$
Cítrico	$pK_a = 2,71$	$pK_2 = 2,92$	$pK_1 = 2,81$
Cítrico	$pK_a = 4,18$	$pK_3 = 4,06$	$pK_2 = 4,16$
Cítrico	$pK_a = 5,15$	$pK_4 = 5,35$	$pK_3 = 5,32$
Fosfórico	$pK_a = 6,46$	$pK_5 = 6,24$	$pK_2 = 6,47$
Fosfórico	$pK_a = 11,18$	$pK_6 = 10,94$	$pK_3 = 11,24$

Na mistura o último valor de pK_a' atribuído a 3^o etapa do ácido fosfórico, observa-se acentuada diminuição, possivelmente devido a interações com o íon citrato; o valor de 10,94 é mais baixo que o valor de 11,24. Suspeita-se da ionização do grupo R-OH do ácido cítrico, perturbando a curva potenciométrica. O valor de pK_6 seria o pK_4 do ácido cítrico e não o pK_3 do ácido fosfórico. Deveria, pois, ser feita nova análise do sistema, reavaliando a reserva ácida para ser coerente com mais um grupo titulável, ou seja, o sétimo grupo talvez.

Assim, reanalisando os dados obtidos da mistura dos ácidos cítrico e fosfórico e considerando agora o número $Z = 7$ grupos ácidos, obteve-se um valor de $pK_7' = 13,15$, atribuível a última etapa de ionização do ácido fosfórico. Não se pode esperar total independência das ionizações dos dois ácidos quando em mistura, em comparação com os valores de pK determinados separadamente. Pequenas alterações nos valores obtidos são justificáveis. Na Tabela 2.6, são apresentados os valores de pK para o sistema de 7 componentes em comparação com dados da literatura e dados do tratamento das titulações separadas dos dois ácidos aqui estudados. É muito interessante a conclusão de que é significativa a 4^o ionização do ácido cítrico.

Tabela 2.6 Reanálise do sistema considerando uma 4^o ionização para o ácido cítrico, levando a um sistema de 7 incógnitas na mistura dos dois ácidos. Comparação entre os valores de pK separados e em mistura com os valores da literatura.

Ácido	Titulação separada	Titulação mistura	Valores literatura
Fosfórico	$pK_a = 1,75$	$pK_1 = 1,75$	$pK_1 = 1,88$
Cítrico	$pK_a = 2,56$	$pK_2 = 2,90$	$pK_1 = 2,81$
Cítrico	$pK_a = 4,15$	$pK_3 = 4,09$	$pK_2 = 4,16$
Cítrico	$pK_a = 5,21$	$pK_4 = 5,35$	$pK_3 = 5,32$
Fosfórico	$pK_a = 6,46$	$pK_5 = 6,24$	$pK_2 = 6,47$
Cítrico	$pK_a = 11,18$	$pK_6 = 10,94$	---
Fosfórico	$pK_a = 12,40$	$pK_7 = 13,15$	$pK_3 = 11,24$

Em vista dos resultados obtidos com as titulações dos ácidos fosfórico e cítrico, coerentes com as espécies existentes nos equilíbrios, empregando o programa computacional Complex5, aplicou-se o programa no estudo de HA extraído de solos pelos métodos de extração aqui discutidos.

1.4.6.3 Titulação Potenciométrica das Amostras de HA

As titulações potenciométricas para a determinação de cada grupamento ácido presente na molécula de HA e seus respectivos valores de pK's foram efetuadas em $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com eletrodo de vidro calibrado para esse meio, conforme discutido na seção 1.4.6.1, página 89. Os valores de E obtidos pelas titulações potenciométricas foram convertidos em valores de $p[H^+]$, (expressando sempre concentração e não atividade iônica) empregando para tal finalidade o programa CaliB2.BAS (linguagem QuickBASIC). Para que ocorra a conversão do E em valores de $p[H^+]$, os dados obtidos por meio da calibração do eletrodo de vidro em alta força iônica, sendo ($E^0 = 0,3572V$) e (coeficiente angular = - 0,05942) devem ser adicionados nesse programa.

As titulações potenciométricas foram efetuadas em condição de baixo potencial de junção visando garantir alta estabilidade do eletrodo de vidro e minimizar possíveis mudanças que possam ocorrer nesse parâmetro quando

incrementos do titulante são adicionados ao analito durante o decorrer da titulação. Na figura 2.8 é mostrada uma curva potenciométrica vs o volume do titulante gasto na titulação da amostra de HA/IHSS.

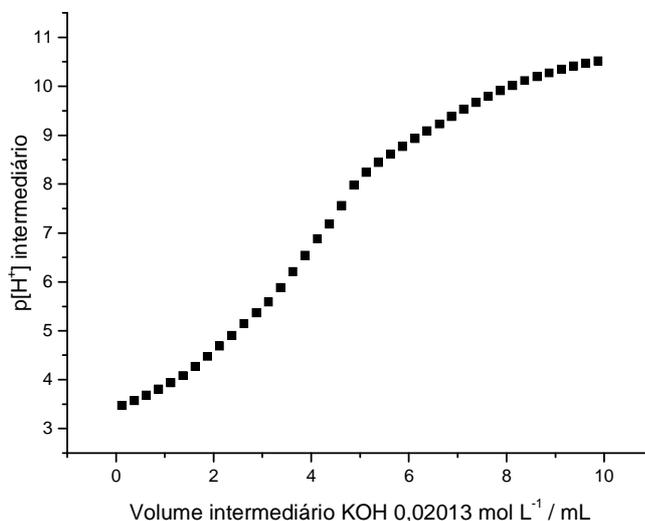


Figura 2.8 Curva potenciométrica obtida para a titulação de 51 mg HA/IHSS, disperso em 49,96 mL de solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Titulante: KOH $0,02013 \text{ mol L}^{-1}$ /Cl₃CCOOK $0,06002 \text{ mol L}^{-1}$ /KCl $0,42 \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 2.9 é mostrada uma curva derivativa potenciométrica típica $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ vs Volume intermediário KOH/Cl₃CCOOK/KCl para a titulação do HA/IHSS.

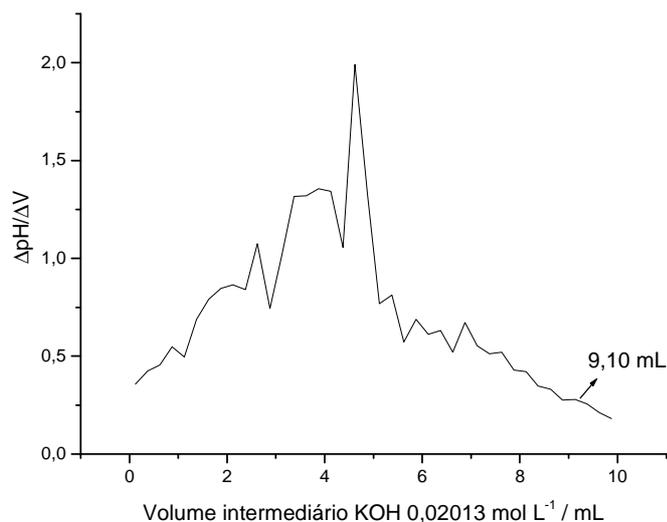


Figura 2.9 Curva potenciométrica derivativa para a titulação de 51 mg de HA/IHSS, disperso em 49,96 mL de solução de KCl 0,50 mol L⁻¹. Titulante: KOH 0,02013 mol L⁻¹/Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹/KCl 0,42 mol L⁻¹.

Como pode ser verificado na Figura 2.9 uma quantidade razoável de picos potenciométricos são obtidos ao longo do decorrer da titulação; indicando os grupamentos ácidos presentes na molécula de HA que foram titulados. O último pico potenciométrico indica a reserva ácida total da molécula de HA, como também o volume total consumido do titulante para neutralizar todos esses grupamentos ácidos, estando em torno de 9,10 mL. Assim, o teor ácido encontrado para a molécula de HA/IHSS é de 3,585 mols H⁺/kg de amostra. Como pode ser verificado na Figura 2.9, os picos no sentido descendente correspondem ao volume consumido do titulante (solução eletrolítica contendo KOH 0,02013 mol L⁻¹/Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹/KCl 0,42 mol L⁻¹) à meia-neutralização de cada grupamento ácido titulável. Os picos no sentido ascendente correspondem ao volume consumido do titulante para a total neutralização de cada um desses grupamentos. Assim, cada pico potenciométrico apresentado na Figura 2.9 é correspondente a cada grupamento ácido que foi totalmente neutralizado pela solução eletrolítica básica empregada. Contudo, pode ser observado também, que as intensidades entre esses picos variam bastante, isso ocorre devido a cada um desses

grupamentos ácidos presentes na molécula de HA apresentar um maior ou menor teor de acidez.

Assim, a constante de dissociação condicional, pK' referente a cada grupamento ácido titulado, pode ser estimada, empregando para tal finalidade o programa computacional Complex5, como verificado na Figura 3.0.

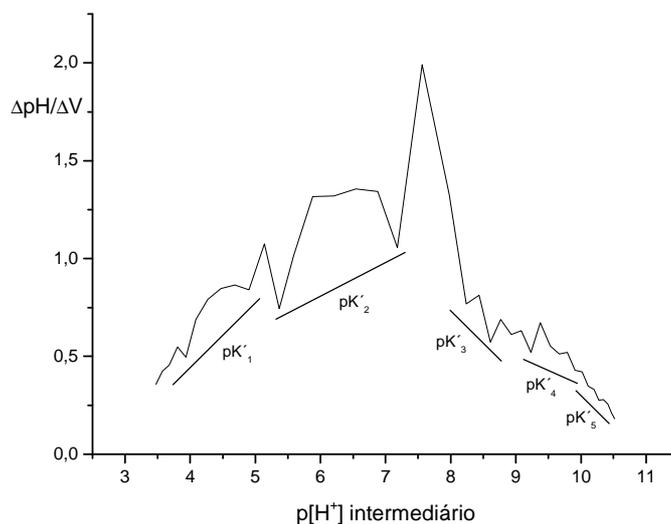


Figura 3.0 Curva potenciométrica para a titulação de 51 mg de HA/IHSS disperso em 49,96 mL de solução KCl 0,50 mol L⁻¹. Titulante: KOH 0,02013 mol L⁻¹/Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹/KCl 0,42 mol L⁻¹.

Como pode ser observado na Figura 3.0, os valores de pH referentes aos picos no sentido descendente correspondem aos valores de pK' s em uma região altamente tamponada. Enquanto que os picos no sentido ascendente correspondem aos valores de pH no ponto de equivalência da titulação de neutralização de cada grupamento ácido. Dessa forma, a amostra de HA/IHSS apresenta dezesseis grupamentos ácidos tituláveis, com os seus respectivos valores de pK' s apresentados na Tabela 2.7. É importante mencionar que o número de grupos ácidos realmente existentes pode ser bem maior que o encontrado nesse tratamento, é possível por exemplo, a coexistência de dois ou mais sítios de pK' s tão próximos que apareçam como um único grupo ácido e o valor numérico encontrado para um pK' é uma média do comportamento de grupos com afinidades protônicas muito próximas.

Tabela 2.7 Valores de pK's referentes a cada grupamento ácido titulado na amostra de HA/IHSS, calculado pelo programa Complex5.

Grupamentos ácidos tituláveis	Faixa de Valores de pK'
pK' ₁	3,67
	3,93
	4,90
pK' ₂	5,37
	6,22
	7,18
pK' ₃	8,24
	8,61
	8,93
pK' ₄	9,23
	9,53
	9,67
	9,91
pK' ₅	10,10
	10,28
	10,52

Como pode ser verificada, a dissociação de todas as carboxilas e grupamentos fenólicos mais fracos presentes na molécula de HA não ocorre simultaneamente. Ou seja, a dissociação se dá em várias etapas, cada uma das quais apresenta um pK' particular, que é maior conforme avança o grau de dissociação, o que significa que o caráter ácido diminui.

O mesmo procedimento foi aplicado a amostra de HA/método proposto visando verificar os grupamentos funcionais presentes em sua estrutura. Observou-se que a amostra de HA/método proposto apresentou cinco valores de pK's correspondentes aos grupos ácidos tituláveis, consumindo um volume total da solução titulante de 9,12 mL (correspondente a total neutralização de todos os grupamentos ácidos). Assim, o teor ácido estimado para essa amostra de HA, é de 3,607 mols H⁺/kg de amostra, ligeiramente maior em relação a amostra de HA/IHSS (3,585 mols H⁺/kg). Contudo, pode-se verificar também que, apesar da amostra HA/método proposto conter menor número de grupamentos ácidos tituláveis comparativamente à amostra de HA/IHSS, o teor de acidez desses grupos é relativamente alto. Podendo ser verificado pelo

volume total consumido do titulante que é praticamente semelhante ao volume consumido na titulação da amostra HA/IHSS. Dessa forma, pelo processo de caracterização aqui proposto, pode-se observar que o HA/método proposto é semelhante ao HA/IHSS, como também comprovado por outras estratégias de caracterização anteriormente discutidas.

O gráfico que apresenta o número de pK's encontrado para a amostra de HA/método proposto pode ser verificado na Figura 3.1. Os respectivos valores estimados para os pK's estão apresentados na Tabela 2.8.

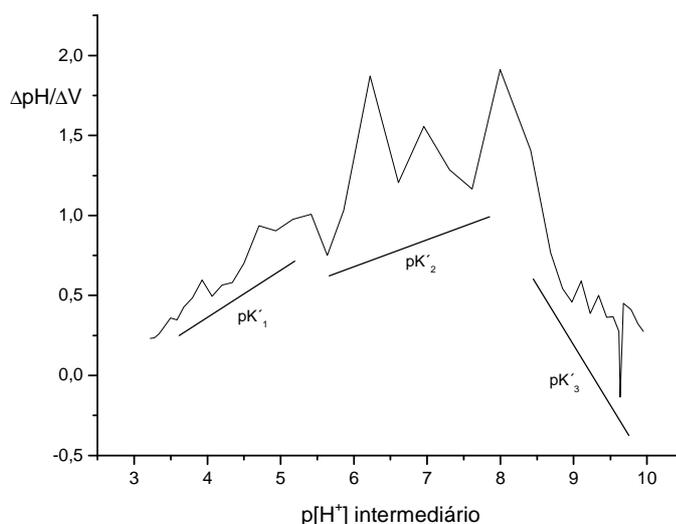


Figura 3.1 Curva potenciométrica para a titulação de 51 mg de HA/método proposto disperso em 49,96 mL de solução KCl 0,50 mol L⁻¹. Titulante: KOH 0,02013 mol L⁻¹/Cl₃CCOOK 0,06002 mol L⁻¹/KCl 0,42 mol L⁻¹.

Tabela 2.8 Valores de pK's referentes a cada grupamento ácido titulado na amostra de HA/método proposto, calculado pelo programa Complex5.

Grupamentos ácidos tituláveis	Faixa de Valores de pK'
pK ₁	3,59
	4,07
	4,34
	4,92
pK ₂	5,64
	6,61
	7,61
pK ₃	8,97
	9,23
	9,45
	9,64
	9,89
	9,96

Analisando-se os resultados pode-se constatar que os valores de pK's para o AH/método proposto são relativamente menores que os valores de pK's para a amostra de HA/IHSS. Portanto, pode-se verificar que a amostra de HA/método proposto apesar de apresentar um número menor de grupamentos ácidos tituláveis (3 grupamentos AH/método proposto vs 5 grupamentos HA/IHSS), uma parte desses grupamentos apresentam uma maior reserva ácida quando comparado ao grupamentos do HA/IHSS. De fato, isso já tinha sido observado quando se verificou que o volume total consumido do titulante para a neutralização total dos grupamentos da amostra HA/método proposto foi próximo ao volume total consumido para o HA/IHSS. Assim, analisando-se os valores de pK's obtidos para ambas as amostras de HA pode-se observar de forma mais detalhada quais desses grupamentos apresentaram maior ou menor teor ácido e então compará-los.

Titulação condutométrica também foi empregada para se estimar a acidez da macromolécula húmica e verificou-se que, nessas condições, a reserva ácida do HA/IHSS foi de 1,870 mols H⁺/kg e para o HA/método proposto de 1,930 mols H⁺/kg. Pode-se notar que a molécula de HA/método proposto apresenta uma acidez relativamente maior que o HA/IHSS, conforme também observado pelo método potenciométrico. Entretanto, os valores de acidez

encontrados aplicando-se ambos os métodos não podem ser comparados já que as condições reacionais empregadas foram diferentes. Contudo, a reserva ácida de cada molécula analisada pode ser comparada e os resultados obtidos em ambos os métodos indicam uma acidez ligeiramente maior para o HA/método proposto.

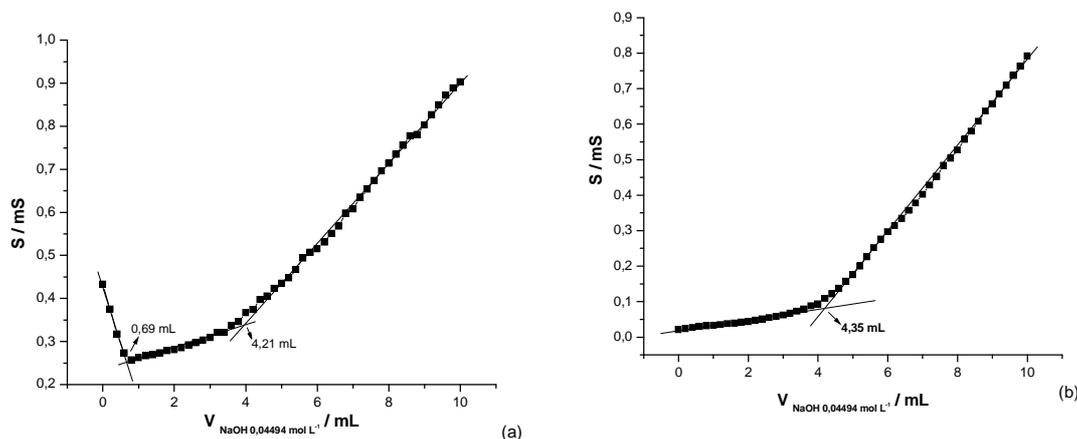


Figura 3.2 Titulação condutométrica das amostras de HA (a) 101 mg de HA/IHSS e (b) 101 mg de HA/método proposto, empregando solução de NaOH 0,04494 mol L⁻¹.

Como pode ser verificado na Figura 3.2 (a), no caso do HA/IHSS observam-se duas regiões de consumo de base, a primeira com ácidos mais fortes e uma segunda, predominantemente, com contribuição de ácidos mais fracos. O volume de 4,21 mL de base se refere a acidez total titulável, a partir da qual se pode calcular mols H⁺/kg. Para o HA/método proposto, Figura 3.2 (b) somente uma região ácida foi identificada, consumindo um volume de base em torno de 4,35 mL.

Aplicou-se também nas amostras de HA o método proposto por Schnitzer & Gupta⁸¹. Os resultados evidenciaram que a reserva ácida de ambas as moléculas de HA é similar. Ou seja, os resultados obtidos para a acidez total na molécula de HA/IHSS é de 0,799 mols H⁺/kg e para o HA/método proposto é de 0,822 mols H⁺/kg. Entretanto, não se pôde estimar a acidez carboxílica nessas duas amostras, pois não foi possível realizar a titulação com solução alcalina uma vez que em ambos os casos se verificava uma queda de pH na adição do primeiro incremento de volume de base, não conseguindo desta forma calcular

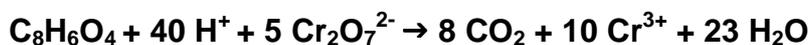
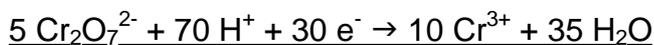
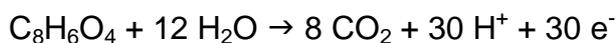
por primeira derivada o volume equivalente consumido para a neutralização do ácido acético que é formado a partir da reação dos grupamentos carboxílicos presentes na molécula de HA com uma solução de acetato de cálcio. Inicialmente pensou-se que esses grupamentos carboxílicos poderiam estar na sua forma dissociada, observado em meio alcalino, decorrente da extração das HS empregando soluções básicas. Entretanto, isso não foi verificado, pois ao dissolver pequena quantidade das amostras de HA em água o pH da suspensão obtida estava em torno de 5,5. Assim, espera-se que o teor desses grupamentos presentes na estrutura dos HA analisados seja baixo, ou seja, possivelmente essas amostras contém um pequeno número desses grupamentos em sua estrutura. Na Figura 3.2 (a), pode-se observar também que o teor de grupos carboxílicos é baixo no HA/IHSS, conforme verificado pelo volume consumido (0,69 mL) para a neutralização de ácidos fortes (grupos carboxílicos). O segundo volume de 4,21 mL corresponde ao volume total consumido para a neutralização de todos os grupamentos ácidos da molécula de HA, ou seja, corresponde tanto a neutralização dos grupos carboxílicos como dos grupos fenólicos. A diferença entre esses dois valores de volume fornece o teor de acidez fenólica, um ácido considerado mais fraco. No caso do HA/método proposto, Figura 3.2 (b) a quantidade de grupos carboxílicos não foi detectada pela titulação condutométrica, podendo-se nesse caso estimar somente a acidez total.

Em relação ao método proposto para a detecção desses grupamentos funcionais, o uso de uma alta força iônica auxiliou na maior dissociação desses grupamentos viabilizando sua detecção e estimativa dos valores de pK's correspondentes a cada grupamento ácido titulável.

1.4.7 Determinação do Número de Elétrons Experimental, Z_e

A determinação da MO em amostras ambientais é geralmente uma análise rápida e quantitativa. Para os procedimentos oxidimétricos, emprega-se como padrão de MO, o hidrogenoftalato de potássio, sugerindo-se a utilização de um fator de correção de 1,33. Em meio ácido o íon hidrogenoftalato libera o ácido ftálico, $C_8H_6O_4$, e sua oxidação a CO_2 e H_2O constitui um processo de

Ze = 30 elétrons por íons dicromato em meio fortemente ácido, reagente apresentando um Ze = 6 elétrons, conforme as equações:



Em alguns métodos, a súbita adição, por exemplo, de 20,00 mL de H₂SO₄ 98% m/m em 10,00 mL de solução padrão de dicromato 0,1200 mol L⁻¹, contendo uma certa quantidade da amostra a ser analisada, gera uma temperatura elevada, acima de 110 °C, que combinada com a alta acidez livre no meio reacional, cria condições drásticas de oxidação da MO, dispensando longo intervalo de tempo de refluxo. A oxidação da MO é rápida e em poucos segundos observa-se significativa mudança de cor laranja para verde. Após resfriada a solução (cerca de 30 min), titula-se o excesso do dicromato com solução padrão de Fe(II) empregando-se indicador redox visual de difenilamina em presença de ácido fosfórico. Entretanto, essa detecção visual do ponto final é um tanto precária, pois a viragem da coloração da solução ocorre da seguinte forma: marrom esverdeado → verde musgo → azul intenso → verde. A visualização dessas etapas não é bem definida causando possivelmente erros experimentais para o volume equivalente, obtendo-se, portanto, resultados não confiáveis.

No presente trabalho algumas modificações no método de Walkley-Black foram realizadas. A primeira delas foi utilizar a titulação potenciométrica para titular o excesso de íons dicromato empregando uma solução padrão contendo íons ferrosos. A segunda modificação foi determinar o número de elétrons experimental, Ze envolvido na titulação do padrão de hidrogenoftalato de potássio. A terceira modificação foi verificar se o número de elétrons, Ze varia de acordo com diferentes volumes de ácido sulfúrico concentrado adicionado a um volume fixo de solução aquosa. Um ponto importante neste trabalho foi empregar o parâmetro Ze como branco da titulação em programas elaborados para a análise dos dados experimentais obtidos.

Inicialmente variou-se a quantidade de H₂SO₄ concentrado 98% m/m adicionado na oxidação do padrão de MO, hidrogenoftalato de potássio,

visando verificar uma região na qual o valor de Z_e experimental encontrado seja o mais próximo possível do valor teórico de $Z_e = 30e$. Titulações potenciométricas foram realizadas adicionando-se volumes crescentes de H_2SO_4 98% m/m, partindo-se de um volume de 6,00 até 24,00 mL, para um volume fixo de solução aquosa de 12,00 mL contendo 6,00 mL de uma solução padrão de $K_2Cr_2O_7$ com concentração em torno de $0,2500 - 0,3300 \text{ mol L}^{-1}$ + 6,00 mL de solução padrão de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$; conforme pode ser observado na Figura 3.3.

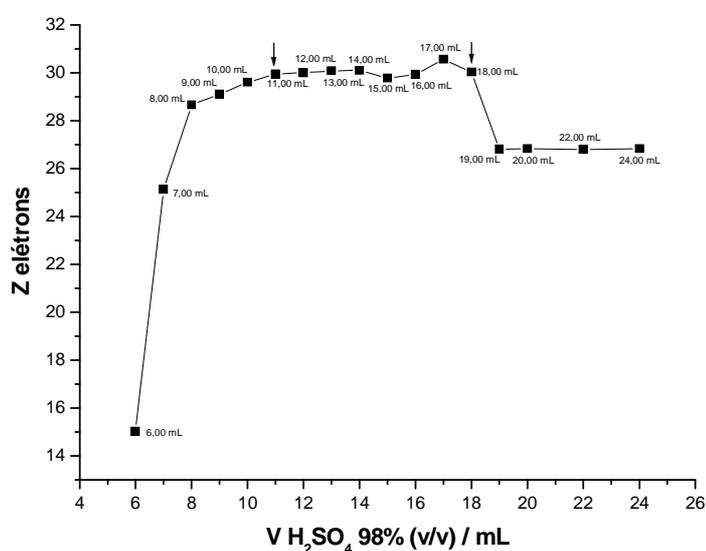


Figura 3.3 Valores médios experimentais para Z_e vs volumes crescentes de H_2SO_4 98% m/m adicionados a um volume fixo de solução aquosa de 12,00 mL contendo 6,00 mL de $K_2Cr_2O_7$ $0,2785 \text{ mol L}^{-1}$ + 6,00 mL de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$.

Como pode ser verificado na Figura 3.3, entre os volumes de 11,00-18,00 mL de H_2SO_4 98% m/m adicionado, os valores experimentais obtidos para Z_e são os mais próximos do valor teórico $Z_e=30e$. Para volumes adicionados de ácido abaixo de 11,00 mL, os valores de Z_e encontrados estão significativamente abaixo do valor teórico de 30e. Para os volumes de ácido adicionados acima de 18,00 mL, os valores experimentais de Z_e sofrem uma significativa redução, estando em torno de $Z_e = 26e$. É importante mencionar

que quando se empregou a proporção convencional 2:1 (volume ácido:volume solução aquosa) obteve-se um valor de $Z_e = 26,83$.

Empregando a titulação potenciométrica para a determinação dos valores de Z_e verificou-se também um segundo ponto final. Isto é, além do ponto de equivalência correspondente a titulação do excesso de íons Cr(VI) no meio reacional, havia a ocorrência desse segundo ponto. Então, inicialmente, testou-se todos os reagentes empregados nesse método e verificou-se que o H_2SO_4 98% m/m continha certa quantidade de íons nitrato. Possivelmente esse segundo ponto potenciométrico é devido à redução do contaminante nitrato, NO_3^- , pela solução titulante contendo íons ferrosos. Caso tivesse empregado a titulação visual para a determinação dos valores de Z_e , certamente esse segundo ponto equivalente não seria detectado. Como pode ser verificado na Figura 3.4, os dois pontos equivalentes são próximos e poderiam influenciar os resultados obtidos por titulação visual.

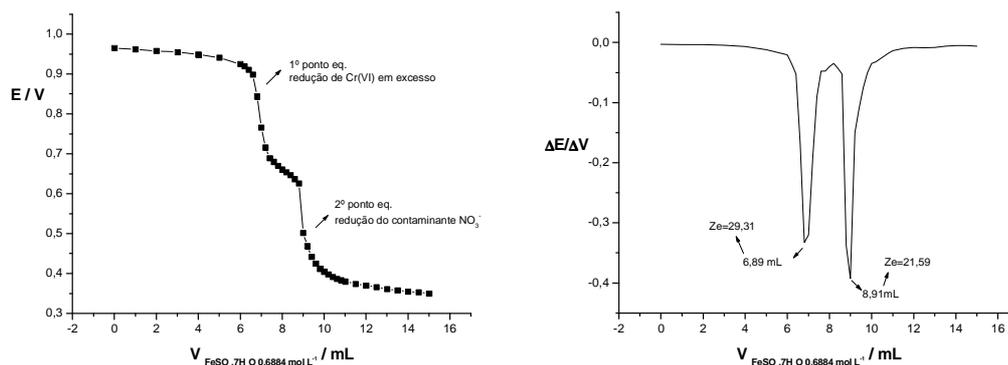
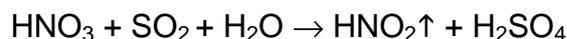
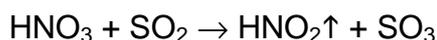


Figura 3.4 Curvas potenciométricas obtidas empregando o método de Walkley-Black modificado para a determinação do valor de Z_e em solução padrão de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$, empregando H_2SO_4 98% m/m não tratado.

Soluções de ácido sulfúrico 98% m/m de grau P.A. de várias procedências foram testadas e verificou-se que todas elas continham algum teor de nitrato. Dessa forma, um procedimento foi proposto (como descrito na seção 1.3.2, página 65) para a eliminação desse contaminante presente no H_2SO_4 98% m/m. Para a eliminação de íons nitrato empregou-se um forte agente redutor, o sulfito de sódio, reduzindo íons nitrato a ácido nitroso volátil, sendo eficientemente removido empregando nitrogênio como gás de arraste:



De fato, as seguintes titulações potenciométricas empregando o H_2SO_4 98% m/m tratado não apresentaram o segundo ponto final, obtendo-se somente uma intensa e bem definida curva potenciométrica devido a redução de íons Cr(VI) , aumentando dessa forma a confiabilidade dos resultados (Figura 3.5).

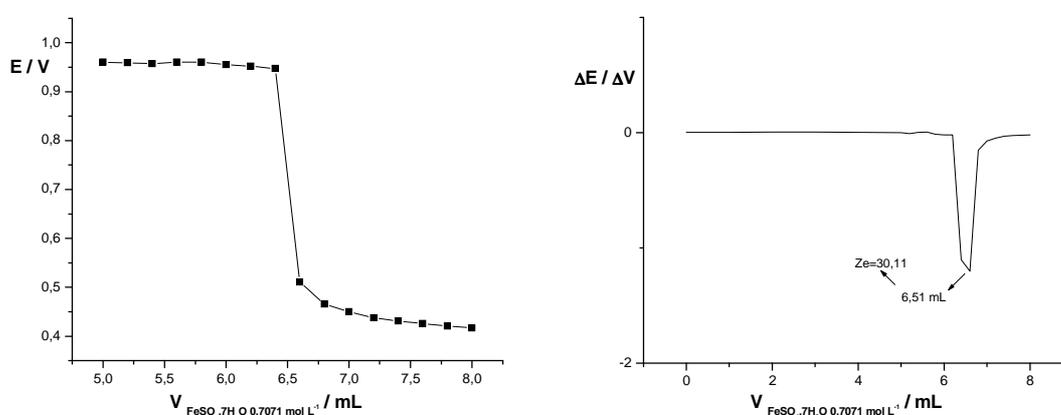


Figura 3.5 Curvas potenciométricas empregando-se o método de Walkley-Black modificado para a determinação do Ze em solução padrão de hidrogenoftalato de potássio $0,03004 \text{ mol L}^{-1}$ empregando H_2SO_4 98% m/m tratado.

Os baixos valores encontrados para o número de elétrons Ze podem indicar que provavelmente houve um menor poder de oxidação do reagente dicromato. Uma possível explicação seria que íons nitrato competem pela oxidação da MO com o dicromato, reduzindo dessa forma seu poder oxidante. Assim, especula-se também que essa diminuição no poder oxidante do dicromato possivelmente possa estar relacionada a uma diminuição da atividade de íons Cr(VI) por sua polimerização, além da fórmula dímica, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, em um meio reacional fortemente ácido, podendo esclarecer o porquê alguns autores usam um fator de correção de 1,33 para a oxidação incompleta.

Conforme verificado, a proporção volume de ácido sulfúrico para volume de solução aquosa pode diminuir da proporção de 2:1 para 1:1. Verificou-se

também que empregando a proporção 1:1, a oxidação do ácido ftálico é rápida e quantitativa, ocorrendo elevação da temperatura do meio reacional para aproximadamente 105 °C. Na Tabela 2.9 são mostrados os valores experimentais obtidos para Ze.

Tabela 2.9 Valores experimentais para o número de elétrons experimental, Ze, empregando a proporção 1:1 solução aquosa:volume ácido.

Número de Determinações	Valor de Ze
1	29,946
2	29,921
3	29,935
4	29,659
5	29,775
6	30,009
7	29,932
8	29,880
9	29,895
10	30,105

Para um intervalo de confiança de 95%, tem-se $29,91 \pm 0,09$, isto é, $\pm 0,30\%$

Neste procedimento o número de elétrons experimental, Ze, envolvido na oxidação do ácido ftálico dispensa o uso do branco convencional sendo esse mais confiável, pois provém de apreciável consumo do agente oxidante. O valor encontrado $Ze = 29,91 \pm 0,09$ é próximo ao valor teórico, $Ze = 30e$, para um intervalo de confiança de 95%, proveniente de determinações, $n = 10$, demonstrando que a reação é quantitativa.

A titulação do excesso de íons de dicromato não reagido na oxidação da MO com solução padrão de sulfato ferroso, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ $0,7500 \text{ mol L}^{-1}$, foi realizada potenciométricamente, com menor erro quando comparado com a titulação visual, dispensando-se neste caso o emprego de ácido fosfórico e do indicador redox. No caso da titulação visual, é necessária a adição de ácido fosfórico e água abundante para melhor visualizar a viragem da coloração da solução com o indicador de difenilamina. O ácido fosfórico, nesse caso, elimina

a cor amarela da solução devido à presença de íons férricos, por meio da formação do complexo aniônico estável e incolor, $[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{3-}$.

Programas computacionais em linguagem QuickBASIC aqui desenvolvidos foram utilizados para facilitar os cálculos. O programa Zredut.BAS ou ainda o Zmassa.BAS, foram utilizados para o cálculo do Ze a partir dos dados experimentais obtidos pelas titulações potenciométricas do padrão de MO. Uma vez determinado o valor médio de Ze, outro programa, o Zorganic.BAS, utiliza esse valor para o cálculo do teor de MO nas amostras, juntamente com os dados experimentais obtidos a partir do procedimento oxidimétrico estabelecido neste trabalho. As saídas de dados são mostradas abaixo para os dois programas em questão.

PROGRAMA Zredut

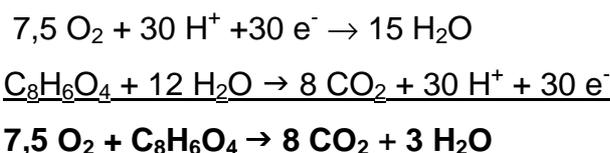
Calcular o valor de Z de agente REDUTOR
em teste oxidimétrico
[TITULANTE OXIDANTE] (molar)? .2785
Z DO TITULANTE? 6
VOLUME TITULANTE, ml? 6.00
[TITULANTE REDUTOR] (molar)? .7071
Parâmetro Z do TITULANTE REDUTOR? 1
[ANALITO] (molar)? .03004
V mL ANALITO? 6.00
V mL titulante de RETORNO? 6.505
Zredut = 30,105

PROGRAMA Zorganic

Calcular a massa e COD de substâncias orgânicas em solos por método oxidimétrico

[TITULANTE OXIDANTE] (molar)? .2785
Z DO TITULANTE? 6
VOLUME TITULANTE, ml? 6.00
[TITULANTE REDUTOR] (molar)? .7071
Parâmetro Z do TITULANTE REDUTOR? 1
Parâmetro Z ac.ftálico, corrigido, ? 29.91
Fator f corrigindo Ze do analito ? 1
Gramas da amostra titulada? .0529
V mL titulante de RETORNO? 8.519
Gramas de matéria orgânica = 2.223E-02
% de matéria orgânica 4.202E+01
DQO em mg de oxigênio/g de solo = 6.070E+02

Os cálculos se baseiam nos balanços de massa das amostras tituladas nas mesmas condições do padrão de hidrogenoftalato de potássio, isto é, pela equivalência com a massa molar do ácido ftálico, 166,13 g mol⁻¹. O programa Zorganic aceita também, se necessário, um fator de correção estequiométrico. Não havendo correção, o fator é 1,000. Além disso, esse programa calcula ainda a demanda química de oxigênio, DQO, em mg de oxigênio por gramas de solo, baseado na equivalência para o seguinte processo redox:



A partir do valor encontrado para o Ze na oxidação do padrão de ácido ftálico e utilizando-se esses programas computacionais pode-se então fazer uma série de experimentos para a determinação da MO contida em várias amostras de solos, bem como para amostras de açúcares, amido de milho, entre outras. Outro programa, Zmassa.BAS também foi empregado para se determinar o valor de Ze, colocando-se neste caso, diretamente o valor da massa em gramas do analito ao invés de volume, como no programa Zredut.

1.4.7.1 Determinação da Matéria Orgânica em Diversas Amostras

Inicialmente, alguns testes empregando o método Walkley-Black modificado foram realizados tendo como exemplo a oxidação da sacarose anidra, massa molar 342,30 g mol⁻¹, que apresenta um Z = 48e:



Transportando para a massa molar 166,13g mol⁻¹ (massa molar do ácido ftálico), por regra de três simples, obtém-se um processo de 23,49 elétrons. O fator de correção estequiométrico a ser introduzido no programa é de $f = (30/23,49) = 1,277$. Na análise de sacarose anidra obteve-se um teor de 99,9% de MO, mostrando que os balanços de massa no programa estavam corretos e que a sua oxidação foi completa. Na análise do amido de milho o

fator estequiométrico empregado foi de $f = 1,220$, e o teor de umidade encontrado nessa amostra estava em torno de 12%, sendo descontado da massa pesada. A amostra de AH analisada foi obtida a partir do procedimento de extração proposto pela IHSS, sem ter passado pelo processo de purificação proposto neste trabalho. Na análise da amostra de AH, o fator de correção estequiométrica calculado foi obtido a partir de dados da literatura¹²², proveniente de 52 amostras de substâncias húmicas apresentando a seguinte composição média, percentual: C = $55,08 \pm 0,35$; H = $5,25 \pm 0,24$; N = $3,08 \pm 0,17$; S = $0,73 \pm 0,11$ e O = $35,90 \pm 0,75$. Com base nessa composição média calculou-se o $Z_e = 33,77$ elétrons, na oxidação equivalente à massa molar de $166,13 \text{ g mol}^{-1}$ (ácido ftálico). O valor do fator de correção estequiométrica foi de $f = 0,888$.

Na Tabela 3.0 são apresentados os teores de MO encontrados nas amostras analisadas empregando o método de Walkley-Black convencional e o método aqui modificado.

Tabela 3.0 Teores de MO empregando o método Walkley-Black convencional e o método Walkley-Black modificado (teor médio \pm desvio padrão, $n = 2$).

Amostra	% MO	
	Método Walkley-Black	Método Walkley-Black modificado
Sacarose	$86,23 \pm 8,13$	$99,90 \pm 0,02$
Amido de Milho	$64,77 \pm 4,12$	$97,71 \pm 0,02$
Café em pó solúvel	$70,57 \pm 6,51$	$79,52 \pm 0,08$
Café convencional	$93,00 \pm 1,12$	$92,02 \pm 0,06$
Solo Turfa	$19,84 \pm 0,15$	$31,63 \pm 0,23$
Vermicomposto	$69,14 \pm 2,06$	$78,08 \pm 0,68$
AH / IHSS	$14,98 \pm 2,03$	$33,46 \pm 0,62$

Como verificado na Tabela 3.0, os teores de MO determinados nas amostras pelo método Walkley-Black modificado são ligeiramente superiores que os teores obtidos empregando o método convencional, com exceção das amostras de solo turfa, vermicomposto e AH que apresentaram valores significativamente discrepantes. Pode-se observar também que o desvio

padrão das medidas obtidas pelo método modificado é menor que o desvio padrão obtido pelo método convencional. É claro que, empregando-se a titulação potenciométrica por ser mais precisa e exata que uma titulação visual, refletirá em menores valores do desvio padrão relacionado a essas medidas. Além disso, a viragem no ponto final no método convencional é de visualização um tanto precária, o que acaba contribuindo para esses altos valores no desvio padrão.

Contudo, as amostras de solo turfa, vermicomposto e AH foram novamente analisadas pelo método de Walkley-Black convencional, ou seja, utilizando a proporção 2:1 volume ácido:solução aquosa. Entretanto, nesse caso, empregou-se a titulação potenciométrica e o valor de $Z_e = 26,83$ (no programa Zorganic) previamente obtido quando se estudou essa proporção (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 Teores de MO pelo método de Walkey-Black convencional, empregando o Z_e como branco da titulação, e pelo método de Walkley-Black modificado (teor médio \pm desvio padrão, $n = 2$).

Amostra	% MO	
	Método Walkley-Black	Método Walkley-Black modificado
Solo Turfa	28,00 \pm 0,35	31,63 \pm 0,23
Vermicomposto	76,21 \pm 1,60	78,08 \pm 0,68
AH / IHSS	31,60 \pm 0,99	33,46 \pm 0,62

Pode-se observar que os teores de MO por ambos os métodos estão mais próximos. Dessa forma, verificou-se que houve uma boa compensação do valor de Z_e proposto neste trabalho atuando como branco da titulação em processo de oxidação incompleta. Em todas as amostras analisadas uma simples observação visual mostrou não restar traços de matéria orgânica não oxidada, de coloração escura; restava apenas material inorgânico incolor, sílica ou alumina.

Amostra de carvão também foi analisada em relação ao teor de MO por ambos os métodos e observou-se que carvão não é oxidado, o que pode ser interessante em análise de solos, já que somente a matéria orgânica ativa,

contendo grupos vulneráveis à oxidação, reage com o agente oxidante. Esse fato é importante para o controle do sequestro de carbono como matéria orgânica ativa no solo, trocável com cátions, cujo valor pode continuar aumentando dentro dos princípios da agricultura moderna de plantio direto. Segundo cálculos citados por Gassen, da Embrapa Trigo¹²² em uma área estimada de 12 milhões de ha sob plantio direto em todo o país, é possível supor que, com o aumento de 1% no teor de MO, proporcionada pelo plantio direto, ocorra a fixação de mais de 100 milhões de toneladas de carbono, extraídas do ar e fixadas no solo. Entretanto, o carvão vegetal incorporado ao solo é inativo, proveniente de queimadas e desmatamentos, comportando-se assim como material inerte, o que não ocorre com a MO.

Conclusões

Considerando-se o estudo aqui desenvolvido buscando propor um método de extração das HS em amostras de solos que leve ao produto desejado com mínimas alterações em sua estrutura molecular, um rendimento de extração relativamente alto e baixo tempo de extração, algumas conclusões podem ser apontadas:

1) Inicialmente, na etapa de extração, o emprego da solução de Na_2CO_3 é útil, pois íons metálicos di- e trivalentes quando em contato com íons de carbonato são precipitados na forma de seus respectivos carbonatos e/ou hidróxidos correspondentes, auxiliando na redução do teor de cinzas. Além disso, como o carbonato é uma base, ele também auxiliaria na remoção das HS para a fase solúvel;

2) Na fase de extração alcalina deve-se também empregar solução de NaOH , pois esse álcali auxiliará na significativa remoção do material húmico para a fase solúvel;

3) Verificou-se que as HS são solubilizadas em um intervalo de tempo em torno de 40 min, isso também deve auxiliar na redução do teor de cinzas, devido ao menor tempo de contato do solo com a solução extratora;

4) A extração das HS quando iniciada por reagente alcalino (NaOH 0,10-0,50 mol L^{-1}), ou seja, não realizando uma etapa de pré-lavagem ácida do solo, leva a um produto final com alto teor de cinzas, geralmente superior a 20 %;

5) A precipitação final do HA pelo método proposto, pode levar a uma nova forma de produto final, como o cloridrato de ácido húmico;

6) Os principais contaminantes inorgânicos presentes nas amostras de HA como também no solo turfa são: silício, alumínio e ferro, sendo eficientemente removidos empregando a solução ácida mista contendo HCl/HF na etapa de purificação;

7) A purificação do HA, realizado em uma única etapa, empregando aquecimento brando, (temperatura 40-50 °C) foi útil na eliminação dos compostos inorgânicos, reduzindo significativamente o teor de cinzas para ca. 1 %;

8) Em relação à caracterização dos HA extraídos pode-se verificar que em todas as técnicas analíticas empregadas, o HA/método proposto apresentou uma estrutura molecular mais condensada, ou seja, essa molécula possivelmente contém um maior teor de anéis aromáticos e/ou grupamentos

mais ramificados em comparação ao HA/IHSS. Contudo, pode-se garantir que o produto final obtido pelo método de extração proposto trata-se de ácido húmico;

9) Verificou-se também que quando o método proposto foi aplicado em outros tipos de solos tanto o rendimento de extração como a estrutura da macromolécula húmica, dependeram do tipo de solo empregado. Quanto à estrutura da molécula, pôde-se observar que o HA/solo turfa apresenta um maior teor aromático que o HA/PZA, indicando nesse caso um maior grau de humificação para esse material;

10) No caso do solo PZA, verificou-se também que o processo de purificação não foi eficiente quando realizado em uma única etapa, diferente ao que se observou para os solos turfa.

Assim, as condições experimentais otimizadas para o método proposto de extração das HS em solos foram:

- 1) Etapa de pré-lavagem ácida do solo: solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ na razão 1:10 m/v (solo:solução ácida) e agitação da suspensão por 20 min;
- 2) Etapa de extração das HS: adição de uma solução de Na₂CO₃ 0,05 mol L⁻¹ ao solo, na razão 1:10 m/v (solo:extrator) e agitação por 20 min da suspensão, adição de NaOH 0,1 mol L⁻¹ à suspensão e agitação por 20 min, totalizando um tempo de extração de 40 min;
- 3) Etapa de purificação do HA: adição da solução ácida mista contendo HCl 0,1 mol L⁻¹/HF 0,3 mol L⁻¹, na razão 1:10 m/v (HA:solução ácida) com aquecimento brando, T= 40-50 °C por 1 h e agitação constante. Após o aquecimento, a suspensão contendo o HA deverá permanecer em agitação durante 12 h.

Dessa forma, espera-se contribuir para que o processo de extração/purificação do material húmico seja menos laborioso e, portanto, mais prático, não deixando de lado o comprometimento em extrair HS pouco modificadas considerando-se sua estrutura original. As propriedades e características do material dependerão fortemente da forma como foram extraídos do solo.

As principais conclusões relacionadas ao método proposto para a caracterização dos grupamentos funcionais presentes na macromolécula húmica são:

11) O emprego de uma alta e constante força iônica, $\mu = 0,50 \text{ mol L}^{-1}$ foi benéfico no sentido de promover uma maior dissociação dos grupamentos ácidos presentes na estrutura do HA e assim aumentar sua solubilidade em meio aquoso, especialmente quando uma solução alcalina é adicionada a esse meio;

12) Essa dissociação dos grupamentos ocorre devido a uma troca catiônica entre os íons H^+ (grupamentos ácidos) com os cátions metálicos presentes na solução eletrolítica, que nesse caso foi o emprego de uma solução de KCl $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. A dissociação dos grupamentos ácidos ocorre em etapas sucessivas apresentando seus respectivos valores de constante condicional, pK' , assumindo-se que a matriz orgânica, o HA, se comporta como um ácido poliprótico;

13) As medidas de constante condicional não se referem somente a uma simples dissociação do íon hidrogênio, mas também a uma troca de cátions metálicos com o ânion do HA apresentando efeitos de densidade de carga minimizados;

14) Aplicando-se o método para a caracterização das amostras de HA extraídas empregando o método sugerido pela IHSS e também o método aqui proposto de extração, verificou-se que a amostra de HA/método proposto apresentou uma acidez ligeiramente maior quando comparada à amostra de HA/IHSS, devido a uma parcela de seus grupamentos ácidos apresentarem um maior teor ácido que os grupamentos do HA/IHSS;

15) Verificou-se por meio de titulação condutométrica que o HA/método proposto apresenta uma acidez ligeiramente maior que o HA/IHSS, conforme já observado quando se empregou a titulação potenciométrica;

16) Empregando o método padrão de Schnitzer & Gupta, pôde-se verificar que o teor de acidez total entre ambos os HA foi similar, contudo não se conseguiu detectar os grupamentos carboxílicos presentes nessas amostras possivelmente devido a uma pequena quantidade presente desses grupamentos.

As principais conclusões deste trabalho referente à modificação do método de Walkley-Black são:

17) Verificou-se que empregando a titulação potenciométrica ao invés da visual obtêm-se resultados mais precisos e confiáveis, refletindo-se em menores valores de desvios padrão;

18) A proporção proposta 1:1 volume ácido:volume solução aquosa quando comparada a proporção 2:1, como indicada no método de Walkley-Black convencional mostrou ser adequada na oxidação da MO, conforme verificado nos resultados obtidos para o teor de MO em diversas amostras analisadas;

19) O emprego do número experimental de elétrons, Z_e proposto neste trabalho atuando como branco da titulação ao invés do branco convencional, também mostrou-se adequado para o cálculo do teor de MO;

20) A aplicação do Z_e proposto no método convencional de oxidação da MO, foi adequada observando uma boa compensação desse valor em possível processo de oxidação incompleta;

21) Observou-se que quando volumes menores que 11,00 mL e maiores que 18,00 mL de H_2SO_4 98% m/m são adicionados ao meio reacional, o valor obtido para o Z_e fica abaixo do teórico $Z_e = 30$ encontrado para a oxidação do padrão de MO, hidrogenoftalato de potássio;

22) O intervalo de volume de adição de H_2SO_4 98% m/m de 11,00-18,00 mL a um volume fixo de solução aquosa (12,00 mL) apresentou valores de Z_e próximo ao valor teórico, $Z_e = 30$;

23) A presença do contaminante nitrato em diversos reagentes de H_2SO_4 98% m/m aqui analisadas, provavelmente interfere no processo de oxidação da MO por competição com o oxidante dicromato. Além disso, um segundo ponto final foi observado durante as titulações potenciométricas, decorrente da redução desses íons nitrato pela solução titulante contendo íons ferrosos;

24) O procedimento empregado para a eliminação desse contaminante em amostras de H_2SO_4 98% m/m com o sulfito de sódio foi adequado para a eliminação de íons nitrato, obtendo-se um sinal potenciométrico intenso e bem definido, levando a resultados mais confiáveis;

25) Os programas computacionais desenvolvidos foram úteis para os diversos cálculos realizados, facilitando essa etapa de tratamento dos dados, e portanto tornando mais eficiente a análise dos dados experimentais;

26) Verificou-se que, em alguns casos, a utilização de um fator de correção estequiométrico é necessário, visto que a estequiometria de reação de oxidação de alguns compostos orgânicos se afasta da estequiometria redox do padrão de MO, hidrogenoftalato de potássio;

27) Os resultados obtidos para o teor de MO empregando o método de Walkley-Black modificado foram relativamente maiores, com seus respectivos valores de desvio padrão menores, quando comparados aos resultados obtidos pelo método de Walkley-Black convencional; exceto para as amostras de solo turfa, vermicomposto e AH,

28) Quando se aplicou o método de Walkley-Black convencional nas amostras que apresentaram teores de MO diferentes (solo turfa, vermicomposto e AH), utilizando nesse caso, a titulação potenciométrica e o valor de Ze aqui propostos, os teores de MO encontrados foram maiores aos valores anteriores e também mais precisos, como verificado pelo menor valor obtido para o desvio padrão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) AIKEN, G.R.; McKNIGHT, D.M.; WERSHAW, R.L. & MacCARTHY, P. "An introduction to humic substances in soil, sediment, and water". IN: *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*. Wiley, New York, 1985. pp.187-200.
- 2) HAYES, M.H.B.; MacCARTHY, P. R.; MALCOLM, L. & SWIFT; R.S. *Search of Structure*. Wiley, New York, 1989. pp.400-421.
- 3) STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Compositions, Reactions*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996. pp.496-501.
- 4) HAYES, M.H.B. & GRAHAM, C.L. "Procedures for the isolation and fractionation of humic substances". IN: *Humic Substances: Versatile Components of Plants, Soil and Water*. E. A. Ghabbour & G. Davies (eds.). Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2000. pp. 91-110.
- 5) KONONOVA, M.M. *Soil Organic Matter*. Pergamon, New York, 1966.
- 6) SPARKS, D.L. *Environmental Soil Chemistry*. Academic Press, San Diego, 1995. pp.53-79.
- 7) FINDLAY, S. & SINSABAUGH, R.L. Unravelling the sources and bioavailability of dissolved organic matter in lotic aquatic. *Mar. Freshwater Res.* **8**:781-790,1999.
- 8) GAFFNEY, J.S.; Marley, N.A. & Clark, S.B. *Humic and Fulvic Acids: Isolation, Structure, and Environmental Role*. American Chemical Society, Washington, 1996. pp.20-36.
- 9) HAYES, M.H.B. & WILSON, W. S. *Humic Substances in Soils, Peats and Waters-Health and Environmental Aspects*. MPG Books, New York, 1998. p. 43-50.
- 10) DAVIES, G.; GHABOUR, E.A.; JANSEN, S.A. & VARNUM, J. *Advanced New Materials and Emerging New Technologies*. Prasad, P.N. & MARK, J.E., New York, 1995. p. 67-74.

- 11) PICCOLO, A. "The supramolecular structure of humic substances". *Soil Sci.* **166** (11): 810-832, 2001.

- 12) DAVIES, G. & GHABOUR, E.A. *Humic Substances - Structures, Properties and Use*. Royal Society of Chemistry, London, 1998.

- 13) JANOS, P. "Separation methods in the chemistry of humic substances". *J. Chromatogr. A* **983**:1-18, 2003.

- 14) RICE, J.A. & MaCCARTHY, P. "A model of humin". *Environ. Sci. Technol.* **24**:1875-1877, 1990.

- 15) KIDD, P.S.; DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ, M.J.; DÍEZ, J. & MONTERROSO, C. "Bioavailability and plant accumulation of heavy metals and phosphorus in agricultural soils amended by long-term application of sewage sludge". *Chemosphere* **66**:1458-1467, 2007.

- 16) MENDOZA, J.; GARRIDO, T.; CASTILHO, G. & SAN MARTIN, N. "Metal availability and uptake by sorghum plants grown in soils amended with sludge from different treatments". *Environ. Sci. Technol.* **26**:763-771, 2006.

- 17) OLESZCZUK, P. "Persistence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sewage sludge-amended soil". *Chemosphere* **65**:1616-1626, 2006.

- 18) SENESI, N. & LOFFREDO, E. "Metal ion complexation by soil humic substances". IN: *Chemical Processes in Soils*. SSSA, Madison, WI, 2005. pp. 563-618.

- 19) HAYES, M.H.B. "Extraction of humic substances from soils". IN: *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation, and Characterization*. G. R. Aiken, D. M. McKnight, R. L. Wershaw & P. MacCarthy (eds.). Wiley, New York, 1985. pp. 329-362.

- 20) CANELLAS, L.P.; GURIDI, F.; VELLOSO, A.C.X. & SANTOS, G.A. "Isolamento, purificação e métodos químicos de análise de substâncias húmicas". IN: *Humosfera - Tratado Preliminar Sobre a Química das Substâncias Húmicas*. L. P. Canellas & G. A. Santos (eds.). 2005. pp. 13-26.
- 21) International Humic Substances Society, IHSS. Oficial WWW page. <http://www.ihss.gatech.edu/intro.html> [online] (acessado 12/04/2008).
- 22) BREMMER, J.M. "Oxidation of soil organic matter in the presence of alkali". *J. Soil Sci.* **1**:198-204,1950.
- 23) SWIFT, R.S.& POSNER, A.M. "Nitrogen, phosphorous and sulfur contents of humic acids fractionated with respect to molecular weight". *J. Soil Sci.* **23**:50-57, 1972.
- 24) TAN, K.H.; HILMMELSBACH, D.S. & LOBARTINI, J.C. "The significance of solid state ^{13}C -NMR spectroscopy of whole soil in the characterization of humic matter". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **23**:1513-1532, 1992.
- 25) KROSSHAVN, M.; Kogel-Knaber, I. & SOUTHON, T.E. "The influence of humus fractionation on the chemical composition of soil organic matter studied by ^{13}C -NMR". *J. Soil Sci.* **43**:473-483, 1992.
- 26) ROSA, A.H.; OLIVEIRA, L.C.; BELLIN, I.C.; ROCHA, J.C.; ROMÃO, L.P.C. & FILHO, N.L.D. "Influence of alkaline extraction on the characteristics of humic substances in Brazilian soils". *Therm. Acta* **433**:77-82, 2005.
- 27) FUJITAKE, N.; KUSUMOTO, A.; YANAGI, Y.; SUZUKI, T. & Otsuka, H. "Properties of soil humic substances in fractions obtained by sequential extraction with pyrophosphate solutions at different pHs. FT-IR and ^1H -NMR spectra of humic acids". *Soil Sci. Plant Nutr.* **49**:347-353, 2003.

- 28) FUJITAKE, N.; KUSUMOTO, A.; TSUKAMOTO, M.; NODA, Y.; SUZUKI, T. & OTSUKA, H. "Properties of soil humic substances in fractions obtained by sequential extraction with pyrophosphate solutions at different pHs - II. Elemental composition and UV-VIS spectra of humic acids". *Soil Sci. Plant Nutr.* **45**:349-358, 1999.
- 29) GARCIA, D.; CEGARRA, J.; BERNAL, M.P. & NAVARRO, A. "Comparative-evaluation of methods employing alkali and sodium pyrophosphate to extract humic substances from peat". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **24**:1481-1494, 1993.
- 30) ROSA, A.H.; ROCHA, J.C. & FURLAN, M. "Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina". *Quím. Nova* **23**:472-476, 1999.
- 31) SCHNITZER, M. & SCHUPPLI, P. "The extraction of organic matter from selected soils and particle size fractions with 0.5 M NaOH and 0.1 M NaPO solutions". *Can. J. Soil Sci.* **69**:253-262, 1989.
- 32) SWIFT, R.S. "Organic matter characterizations". IN: *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*. D. L. Sparks (ed.). American Society of Agronomy, Madison, 1996. pp. 1011-1070.
- 33) CLAPP, C.E. & HAYES, M.H.B. "Characterization of humic substances isolated from clay- and silt - sized fractions of a corn residue - amended agricultural soil". *Soil Sci.* **164**:899-913, 1999.
- 34) CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B.; SENESI, N. & GRIFFITH, S.M. *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments: Characterization, Transformations and Interactions*. IHSS, Birmingham, UK, 1996. pp.13-37.

- 35) HAYES, T.M.; HAYES, M.H.B.; SKEMSTAD, J.O.; SWIFT, R.S.; MALCOLM, R.L. "Isolation of humic substances from soil using aqueous extractants of different pH and XAD resins, and their characterization by ^{13}C -NMR". IN: *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environment*. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi & S. M. Griffith (eds.). IHSS, University of Minnesota, St. Paul, 1996. pp. 13-24.
- 36) SPARKS, D.L. *Soil Physical Chemistry*. CRC Press LLC, New York, 1999. pp.239-370.
- 37) SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. *Soil Organic Matter*. Elsevier Science Publishers, New York, 1978.
- 38) CAMERON, R.S.; THORNTON, B.K.; SWIFT, R.S. & POSNER, A.M. "Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractionated extracts". *J. Soil Sci.* **23**:394-408, 1972.
- 39) PICCOLO, A. & MIRABELLA, A. "Molecular weight distribution of peat humic substances extracted with different inorganic and organic solutions". *Sci. Total Environm.* **62**:39-46, 1987.
- 40) ZACCONE, C.; COCOZZA, C.; ORAZIO, V.D.; PLAZA, C.; CHERBURKIN, A. & MIANO, T.M. "Influence of extractant on quality and trace elements content of peat humic acids". *Talanta* **73**:820-830, 2007.
- 41) TONELLI, D.; SEEBER, R.; CIAVATTA, C. & GESSA, C. "Extraction of humic acids from a natural matrix by alkaline pyrophosphate. Evaluation of the molecular weight of fractions obtained by ultrafiltration". *Fresenius J. Anal. Chem.* **359**:555-560, 1997.
- 42) DICK, D.P.; BURBA, P.; Herzog, H. "Influence of extractant and soil type on molecular characteristics of humic substances from two Brazilian soils". *J. Braz. Chem. Soc.* **10**:140-145, 1999.

- 43) TAZTBER, M.; STEMMER, M.; SPIEGEL, H.; KATZLBERGER, C.; HARBEHAUER, G.; MENTLER, A. & GERZABEK, M.H. "FTIR - spectroscopic characterization of humic acids and humin fractions obtained by advanced NaOH, Na₄P₂O₇, and Na₂CO₃ extraction procedures". *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **170**:522-529, 2007.
- 44) DICK, D.P.; BURBA, P. "Extraction kinetics and molecular size fractionation of humic substances from two Brazilian soils". *J. Braz. Chem. Soc.* **10**:146-152, 1999.
- 45) CEGARRA, J.; GARCIA, D.; NAVARRO, A. & BERNAL, M.P. "Effects of heat on the alkali extraction of humic substances from peat". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **25**:2685-2695, 1994.
- 46) CLAPP, C.E. & HAYES, M.H.B. "Isolation of humic substances from an agricultural soil using a sequential and exhaustive extraction process". IN: *Humic Substances and Organic Matter in Soils and Water Environments: Characterizations, Transformations and Interactions*. C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi & S. M. Griffith (eds.). IHSS, University of Minnesota, St. Paul, 1996. pp. 3-11.
- 47) MARTIN, D. & HAUTHAL, H.G. *Dimethyl sulphoxide* (traduzido por E. S. Halberstad). Van Nostrand-Reinhold, New York, 1975.
- 48) HAYES, M.H.B.; SWIFT, R.S.; WARDLE, R.E. & BROWN, J.K. "Humic materials from an organic soil: A comparison of extractants and of properties of extracts". *Geoderma* **13**:231-245, 1975.
- 49) RICE, J.A. & MaCCARTHY, P. "Isolation of humin by liquid-liquid partitioning". *Sci. Total Environ.* **81/82**:61-69, 1989.
- 50) RICE, J.A. & MaCCARTHY, P. "A model of humin". *Environ. Sci. Technol.* **24**:1875-1877, 1990.

- 51) SPITELLER, M. "A new procedure for the extraction of organic matter from soils by supercritical gases". *Z. Planzenernaehr. Bodenk.* **145**:483-492, 1982.
- 52) Patente DE 1251319-B. *Pure humic acid production*. 1960.
- 53) Patente DE 1925426-U; BE 733175-A; FR 2016749-A; DE 1925426-A; CA 890841-A; NL 6907536-A; GB 1260554-A; SU 301001-A; US 3674649-A. *Process fo the production of humic acids*. 1969.
- 54) EDWARDS, A.P. & BREMMER, J.M. "Dispersion of mineral colloids in soils using cation exchange resins". *Nature* **205**:28-29, 1965.
- 55) SHIRSHOVA, L.T. & KHOMUTOVA, T.E. "The response of humic substances to soil acidification and freezing". *Environ. Int.* **20**:405-410, 1994.
- 56) SHIRSHOVA, L.T.; KHOMUTOVA, T.E.; LOCHMANNSROEBEN, T.; SKRIVANEK, G.H. & RITCHER, J. "The response of humic substances to soil percolation". *Extend. Abstr. 7th Nordic Symposium on Humic Substances in Soil and Water*. 77-79, 1999.
- 57) SHIRSHOVA, L.T.; GHABBOUR, E.A. & DAVIES, G. "Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures". *Geoderma* **133**:204-216, 2005.
- 58) MECOZZI, M.; AMICI, M.; PIETRANTONIO, E. & ROMANELLI, G. "An ultrasound assisted extraction of the available humic substance from marine sediments". *Ultrason. Sonochem.* **9**:11-18, 2002.
- 59) MOREDO-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. & BERMEJO-BARRERA, P. "New trends involving the use of ultrasound energy for the extraction of humic substances from marine sediments". *Anal. Chim. Acta* **524**:97-107, 2004.

- 60) ROMARÍS-HORTAS, V.; MOREDA-PIÑERO, A. & BERMEJO-BARRERA, P. "Application of microwave energy to speed up the alkaline extraction of humic and fulvic acids from marine sediments". *Anal. Chim. Acta* **602**:202-210, 2007.
- 61) MAJORS, R.E. "An overview of sample preparation methods for solids". *LC-GC* **6S**:S8-S13, 1999.
- 62) CARTER, R.J.; HOXEY, A. & VERHEYEN, T.V. *Sci. Total Environ.* **125**:25, 1992.
- 63) CAMEL, V. "Microwave - assisted solvent extraction of environmental samples". *Trends Anal. Chem.* **19**:229-248, 2000.
- 64) RICE, J.A. & MaCCARTHY, P. "Comments on the literature of the humin fraction of humus". *Geoderma* **43**:65-73, 1988.
- 65) RICE, J.A. "Humin". *Soil Sci.* **166**:848-857, 2001.
- 66) PRESTON, C.M. & NEWMAN, R.H. "Demonstration of spatial heterogeneity in the organic matter of de-ashed humin samples by solid-state ¹³C CPMAS NMR". *Can. J. Soil Sci.* **72**:13-19, 1992.
- 67) PRESTON, C.M.; SCHNITZER, M. & RIPMEESTER, J.A. "A spectroscopic and chemical investigation on de-ashing of a humin". *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **53**:1442-1447, 1989.
- 68) RUSSELL, J.D.; VAUGHAN, D.; JONES, D. & FRASER, A.R. "An IR spectroscopic study of soil humin and its relationship to other soil humic substances and fungal pigments". *Geoderma* **29**:1-12, 1983.
- 69) ALMENDROS, G. & GONZÁLEZ-VILA, F.J. "Degradative studies on a soil humin fraction-sequential degradation of inherited humin". *Soil Biol. & Biochem.* **19**:513-520, 1987.

- 70) LAW, I.A.; HAYES, M.H.B. & TUCK, J.J. "Extraction humic substances from soil using acidified dimethyl sulphoxide". IN: *Proceedings of the Second International Conference of the International Humic Substances Society*. University of Birmingham, Birmingham, 1984. pp. 18-21.
- 71) PICCOLO, A. "Characteristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment". *Soil Sci.* **146**:418-426, 1988.
- 72) TSUTSUKI, K.; KUWATSUKA, S. "Characterization of humin-metal complexes in a buried volcanic ash soil profile and a peat soil". *Soil Sci. Plant Nutr.* **38**:297-306, 1992.
- 73) BAGLIERI, A.; IOPPOLO, A.; NÈGRE, M. & GENNARI, M. "A method for isolating soil organic matter after the extraction of humic and fulvic acids". *Org. Geochem.* **38**:140-150, 2007.
- 74) STEVENSON, F.J. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water*. Wiley & Sons, New York, 1985. pp.13.
- 75) SCHULTEN, H.R. & SCHNITZER, M. "A state of the art structural concept for humic substances". *Naturwissenschaften* **80**(29):45-51, 1993.
- 76) KONONOVA, M.M. *Soil Organic Matter*. Pergamon, New York, 1966. pp.75.
- 77) SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. *Humic Substances in the Environment*. Marcel Dekker, New York, 1972. pp. 43-49.
- 78) SPARKS, D.L. *Soil Physical Chemistry*. CRC Press LLC, New York, 1999. pp.239-370.
- 79) DAVIES, G. & GHABOUR, E.A. *Humic Substances - Structures, Properties and Use*. Royal Society of Chemistry, London, 1998.

- 80) PERDUE, E.M. *Aquatic and Terrestrial Humic Materials*. Ann Arbor Science, New York, 1983. pp.441
- 81) SCHNITZER, M. & GUPTA, U.C. "Determination of acidity in soil organic matter". *Soil Sci. Proc.* **274**:274, 1965.
- 82) PRADO, A.G.S.; SOUZA, S.M.; SILVA, W.T.L. & REZENDE, M.O.O. "Desenvolvimento de um sistema de filtração e titulação para a determinação da acidez de ácidos húmicos". *Quím. Nova* **22**(6) 894-896, 1999.
- 83) SANTOS, E.B.H.; ESTEVES, V.I.; RODRIGUES, J.P.C. & Duarte, A.C. "Humic substances' proton-binding equilibria: assessment of errors and limitations of potentiometric data". *Anal. Chim. Acta* **392**: 333-334, 1999.
- 84) EPHRAIM, J.; ALEGRETE, S.; MATHUTHU, A.; BICKING, M.; MALCOLM, R. L. & MARINSKY, J.A. "A united physicochemical description of the protonation and metal ion complexation equilibria of natural organic acids (humic and fulvic acids). 2 Influence of polyelectrolyte properties and functional group heterogeneity of the protonation equilibria of fulvic acids". *Environ. Sci. Technol.* **20**: 354-366, 1986.
- 85) TIPPING, E.; BACKES, C.A. & HURLEY, M.A. "The complexation of protons, aluminium and calcium by aquatic humic substances: A model incorporating binding-site heterogeneity and macroionic effects". *Water Res.* **22**:597-611, 1988.
- 86) EPHRAIM, J.; BORÉN, H.; PETTERSSON, C.; ARSENIE, I. & ALLARD, B. "A novel description of the acid-base properties of an aquatic fulvic acid". *Environ. Sci. Technol.* **23**: 356-362, 1989.
- 87) BOWLES, E.C.; ANTWEILER, R.C. & MaCCARTHY, P. *Humic Substances in the Swanee River: Interactions, Properties, Proposed Structures*. Open File Republic, U.S. Geological Survey, no. 87-557, 1989. pp.207.

- 88) FUKUSHIMA, M; TANAKA, S.; NAKAMURA, H.; Ito, S. "Acid-base characterization of molecular weight fractionated humic acid". *Talanta* **43**:383-390, 1996.
- 89) NEVES, E.A.; BENEDETTI E.; SOUZA, D.C.; JAVARONI, R. "Hydrogen ion affinity in humic acids: a coordination approach". *J. Coord. Chem.* **56**(7): 623-633, 2003.
- 90) PICCOLO, A.; CAMICI, L. "A comparison of two methods for the determination of total acidity of humic substances". *Int. J. Environ. Analyt Chem.* **41**: 65-69, 1990.
- 91) SCHIAVO, J. *Correlação entre métodos químicos e espectroscópicos na avaliação da acidez carboxílica de ácidos húmicos*. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, 2004. Exame de Qualificação, p.15.
- 92) BAIRD, C. "A química das águas naturais". IN: *Química Ambiental*. trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera. Bookman, Porto Alegre, 2002. pp. 443-455.
- 93) GREENBERG, A. E.; CLESCERI, L. S.; EATON, A. D. "Determination of organic matter". IN: *Standard Methods – For The Examination of Water and Wastewater*. Chemical Publishing CO. INC., Washington, 1992. pp.5-6.
- 94) CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; RAIJ, B. VAN. "Determinação da matéria orgânica". IN: *Comparação de Métodos Rápidos para a Determinação da Matéria Orgânica em Solos*. J.A. Quaggio & B. van Raij (eds.). R. Bras. Ci. Solo, 1979. pp.173-178.
- 95) WALKLEY, A.; BLACK, I.A. "An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method". *Soil Sci.* **37**:29-38, 1934.
- 96) STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Compositions, Reactions*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996. pp.496-501.

- 97) JIMENEZ, R.R.; LADHA, J.K. "Automated elemental analysis: a rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **24**: 1897-1924, 1993.
- 98) SKOOG, D.A.; HOLLER, J.; NIEMAN, T. "Métodos de análise automatizados". IN: *Princípios de Análise Instrumental*. Bookman, Porto Alegre, 2002. pp. 743-744.
- 99) HESSE, P.R. "Carbon and organic matter". IN: *A Textbook of Soil Chemical Analysis.*, Chemical Publishing CO., INC., New York, 1971. pp.204-250.
- 100) BEYER, L.; DESLIS, K.; VOGT, B. "Estimation of soil organic matter composition according to a simple thermoanalytical approach". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **9**:1277-1297, 1998.
- 101) ESCOSTEGUY, P.A.V.; GALLIASSI, K.; CERETTA, C.A. "Determinação de matéria orgânica do solo pela perda de massa por ignição, em amostras do Rio Grande do Sul". *R. Bras. Ci. Solo* **31**:247-255, 2007.
- 102) NELSON, D.L.; SOMMERS, L.E. "Total carbon, organic carbon, and organic matter". IN: *Methods of Soil Analysis*. Part 3. Chemical Methods. D.L. SPARKS (ed.). Madison: American Society of Agronomy, New York, 1996. pp.961-1010.
- 103) RAY VAN B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. *Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais*. Instituto Agrônomo, Campinas, 2001. pp.173-180.
- 104) COMISSÃO INTERNA DE SEGURANÇA QUÍMICA. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Os riscos do cromo (VI) e da solução sulfocrômica. Rio Preto, 2004. WWW page. <http://www.qca.ibilce.unesp.br/prevencao/BMCISQ1004.html> [online] (acessado 20/06/2008).

- 105) KREJCOVA, J.; KRALOVA, M.; RUZEK, P.; ZIKOV, I. "Titration and potentiometric determination of soil organic matter carbon". *Rostlinna Vyroba* **42**(3):115-117, 1996.
- 106) TAM, N.F.Y.; YAO, M.W.Y. "An accurate, simple and novel analytical method for the determination of total organic carbon in sediment". *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **72**(2):137-150, 1998.
- 107) SAHRAWAT, K.L. "Simple modification of the Walkley-Black method for simultaneous determination of organic carbon and potentially mineralizable nitrogen in tropical rice soils". *Plant and Soil* **69**(1):73-77, 1982.
- 108) CUNHA, F.; FAMBRINI, A.S.; MAMERI, C.P. & OLIVEIRA, J. N.C. *de Matemática Aplicada*. São Paulo, Atlas, 1990. p. 343.
- 109) SILVA, P.H.P. *Titulações Potenciométricas de Cátions Metálicos tendo como Eletrodo Indicador o Sistema Cu/CuY₂⁻*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2007. Dissertação de Mestrado.
- 110) SOUZA, D.R.C. *Balanços de Massa Protônicos em Estudos Sistemáticos de Substâncias Húmicas*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004. Tese de doutorado, p. 64-68.
- 111) MC PHIE, P. "Enzyme purification and related techniques: dialysis". IN: *Methods in Enzymologist*, vol. 22. JACOBY, W. B. (ed.). Academic Oress, New York, 1971. cap.14.
- 112) BAES C.F.J.; MESMER, R.E. *The Hydrolysis of Cations*. Wiley-Interscience, New York, 1976. pp. 85.
- 113) MEYERS, P.A. & ISHIWATARI, R. "Lacustrine organic geochemistry: An overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments". *Org. Geochem.* **20**:867-900, 1993.

114) NELSON, P.N.; DICTOR, M.C. & SOULAS, G. "Availability of organic carbon in soluble and particle-size fractions from a soil profile". *Soil Biol. Biochem.* **26**:1549-1555, 1994.

115) MARTELL, A.E.; SMITH, R.M. & MOTEKAITIS, R.J. *NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database*. Version 4.0, New York, 1997.

116) IBARRA, J.V. & JUAN, R. "Structural changes in humic acids during the coalification process". *Fuel* **64**:650-656, 1985.

117) VIEIRA, E.C.; KAMOGAWA, M.Y.; LEMOS, S.G.; NÓBREGA, J.A. & NOGUEIRA, A.R.A. "Decomposição de amostras de solos assistida por radiação microondas: estratégia para evitar a formação de fluoretos insolúveis". *R, Bras. Ci. Solo* **29**:547-553, 2005

118) SENESI, N; MIANO, T.M.; PROVENZANO, M.R. & BRUNETTI, G. *Sci. Total Environ.* **81/82**: 143-156, 1989.

119) BECK, M.T. *Chemistry of Complex Equilibria*. Van Nostrand Reinhold Company, London, 1970.

120) MARTELL, A.E.; SMITH, R.M.; MOTEKAITIS, R.J. "NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database". Version 4.0, New York, 1997.

121) ESCODA, M.L.; TORRE, F. & SALVADÓ, V. "The formation of mixed ligand complexes of Fe(III) with phosphoric and citric acids in 0.5 mol L⁻¹ NaNO₃ aqueous solutions". *Polyhedron*, **18**:3269, 1999.

122) SPARKS, D.L. "Chemistry of soil organic matter". IN: *Environmental Soil Chemistry*. Academic Press INC, London, 1995. pp.53-83

123) "A Questão do Efeito Estufa e o Plantio Direto. Poderemos cobrar mais por não lavrarmos mais o solo?" *Rev. Plantio Direto* **55**:13-14, 2000.

Capítulo 2

Eliminação de Íons Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Destiladas por Troca-Iônica com Carbonatos Sólidos de Cálcio e Magnésio

2.1 Introdução

Cachaça, a bebida mais popular do Brasil, é definida pela legislação brasileira como o produto alcoólico obtido a partir da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado, devendo apresentar teor alcoólico entre 38-48% em volume a 20°C¹. Devido as diferentes formas de processamento nos engenhos, podendo variar de uma região para outra, algumas de suas propriedades como sabor, aroma e coloração geralmente sofrem modificações.

A produção anual de cachaça está em torno de 2 bilhões de litros por ano² tendo uma grande importância social e econômica para o Brasil, sendo este o maior produtor da bebida em todo o mundo, seguido por Índia e Cuba³⁻⁴. Entretanto, menos de 1% do volume nacional produzido é exportado. Buscando reverter esse quadro, esforços têm sido feitos ultimamente para aumentar o volume de exportação e qualificar a cachaça como uma bebida internacional tipicamente brasileira⁵. Conseqüentemente, o controle de qualidade para essa bebida vem se tornando cada vez mais rígido, quanto à sua composição química e também ao seu perfil sensorial⁶⁻¹⁰.

Elementos metálicos podem estar presentes em bebidas alcoólicas, como na cachaça, que, nesse caso, podem ser provenientes da cana-de-açúcar ou ainda durante o processo de fabricação da bebida. Sendo assim, a avaliação dessas espécies catiônicas em bebidas alcoólicas é importante pois possibilita identificar resíduos de fertilizantes e de pesticidas que podem ser provenientes das lavouras de cana-de-açúcar, ou ainda, da contaminação durante o processo de fabricação da cachaça.

Em relação à cachaça, o caldo da cana-de-açúcar fermentado nas chamadas “dornas de fermentação” é destilado em alambiques de cobre ou de aço inoxidável. Os produtores consideram que a destilação em alambiques de cobre é importante para garantir boas propriedades organolépticas ao produto, o que faz desses alambiques os mais utilizados. Contudo, o emprego de alambiques de aço inoxidável foi uma alternativa para se contornar o problema de contaminação da bebida por íons cobre(II). Entretanto, essa substituição do cobre dos alambiques ressaltou a importância desse metal na qualidade sensorial das cachaças. Os destilados obtidos em alambiques de aço

inoxidável apresentam o característico odor de sulfetos, depreciando a qualidade da bebida¹¹.

Durante a etapa de destilação a mistura líquida obtida no processo de fermentação, rica em compostos voláteis, fica em contato com a superfície metálica quente do destilador, o qual se comporta como um reator, sendo que o metal presente na superfície do destilador age como catalisador¹². Assim, um grande número de reações como reação de esterificação, acetilação, desidratação e de oxidação ocorrem durante a destilação desse líquido fermentado¹³⁻¹⁴. O rendimento dos produtos obtidos nessas reações e a razão entre eles dependem fortemente do tipo de destilador empregado. Ou seja, do material que esse destilador foi fabricado, como também da intensidade e homogeneidade da fonte aquecedora^{11,15}. Por exemplo, baixo nível de compostos sulfurados voláteis como o dimetilsulfeto e altos teores de aldeídos e de íons cobre(II) presentes na cachaça estão relacionados com o uso de cobre metálico para construção da parte ascendente do destilador¹⁵⁻¹⁷.

Contudo, durante o processo de destilação em alambiques de cobre um composto comumente conhecido como azinhavre (i.e. carbonato básico de cobre), $[\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2]$, é formado nas paredes internas do recipiente, contaminando o destilado. Essa substância é dissolvida quando em contato com os vapores alcoólicos acidificados, em processo de condensação, contaminando a bebida com cobre(II), em níveis de toxicidade aceitáveis ou não¹⁸. Esse composto pode ser parcialmente removido desses alambiques, bastando para isso, fazer uma primeira destilação com água, cujo vapor arrasta o azinhavre das paredes do alambique de cobre, ou lavando com água e caldo de limão. Entretanto, mesmo em superfície limpa do metal a temperatura do líquido destilado em presença do ar pode causar contaminação com cobre.

É sabido que traços de metais, incluindo cobre, podem modificar a coloração, o sabor e o aroma das bebidas alcoólicas. Os efeitos tóxicos do cobre foram inicialmente investigados por Klevay e Forbush¹⁹ assim como a determinação desse elemento em diversas bebidas.

O cobre é um nutriente essencial ao funcionamento de importantes sistemas enzimáticos no organismo humano. Esse elemento, juntamente com aminoácidos, ácidos graxos e vitaminas, é de suma importância para os processos metabólicos. Entretanto, o seu consumo deve ser bem controlado,

pois um excesso pode resultar em graves níveis de toxicidade. Alta concentração de cobre no organismo pode causar a doença de Wilson ou outros efeitos maléficos, devido à afinidade desse metal para com grupos S-H de muitas proteínas e enzimas, sendo associado a doenças como epilepsia, melanona e artrite reumatóide, bem como à perda de paladar²⁰. A dose diária permitida de cobre para adultos é de 1,0-1,4 mg/dia, segundo a Food Nutritional Board, FNB²¹. Além disso, o cobre pode catalisar a formação do carbamato de etila, potencialmente cancerígeno, durante o processo de armazenamento da bebida. Especula-se que isso possa ocorrer mesmo em níveis aceitáveis de cobre, o que justifica dispor-se de um método eficiente para sua remoção, antes do envelhecimento da cachaça em tonéis. Entretanto, segundo Aresta *et al.*²², a maior parte da formação de carbamato de etila geralmente ocorre num período de 24-48 h após o processo de destilação da bebida. Um procedimento comumente adotado pelos produtores para a redução do teor de carbamato de etila nessas bebidas, é uma dupla destilação da cachaça, devido a baixa volatilidade dessa substância em soluções alcoólicas¹³. Contudo esse procedimento leva a uma deterioração em relação ao teor alcoólico e ao aroma da bebida.

Assim, considerando-se que o cobre pode estar associado a doenças graves, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabeleceu que a quantidade de cobre presente na cachaça não deve exceder ao limite máximo de 5 mg L⁻¹ (Diário Oficial Federal, 19/09/1974, Artigo nº 371)²³. Internacionalmente as exigências são maiores e variáveis. De qualquer forma o teor de cobre para a cachaça destinada à exportação é no máximo de 1-2 mg L⁻¹, o que vem sendo uma limitação para expandir o consumo dessa bebida no mercado exterior¹⁰. Algumas cachaças produzidas por pequenos produtores apresentam níveis de cobre superiores ao estabelecido, atingindo teores tão elevados como 20 mg L⁻¹.

Vários métodos têm sido propostos para a determinação de cobre em bebidas alcoólicas. Devido geralmente à baixa concentração desses íons nas bebidas, espectrofotometria de absorção molecular, espectrometria de absorção atômica em chama, (FAAS) e fluorescência de raios-X têm sido bastante empregados na determinação desse metal²⁴⁻²⁸. A espectrometria de absorção atômica apresenta alta sensibilidade com baixos limites de detecção,

custo razoável e facilidade de implementação, sendo assim amplamente aplicada.

Há na literatura estudos relacionados à remoção de íons cobre em bebidas baseados na formação de agentes quelantes insolúveis²⁹ ou ainda no emprego de resinas quelantes³⁰. Entretanto, esses métodos propostos são relativamente complicados, aumentam o custo de produção e dependem de algumas variáveis químicas como pH, tempo de contato da solução com a resina, temperatura, área superficial da resina, entre outras. Outra alternativa que os produtores dispõem para a remoção de cobre é através do emprego do carvão ativado³¹, mas nesse caso um cuidado ainda maior deve ser tomado, pois outros produtos que lhe conferem aroma e sabor, como ésteres, álcoois superiores (propanol, butanol, isobutanol, amílico e isoamílico), entre outros, são também adsorvidos pelo carvão, obtendo-se uma bebida de baixa qualidade sensorial ou não agradável ao paladar. Uma patente nacional³² depositada em 1992, refere-se à eliminação do óxido de cobre em cachaça de produção artesanal no qual se faz a eluição, a uma determinada pressão, da cachaça pura em uma coluna de filtração contendo uma resina de troca catiônica apresentando grupos ativos sulfônicos. Assim, segundo descrito na patente, o óxido de cobre é completamente removido da cachaça e a resina empregada nesse procedimento pode ser regenerada através de sucessivas lavagens com água ou outro solvente. Uma outra patente japonesa³³, depositada no ano de 1994, remove íons cobre de bebidas alcoólicas aromatizadas com sucos de frutas através do tratamento com substâncias ligantes ou adsorventes. Contudo, a maior parte desses estudos emprega resinas quelantes como agentes removedores de cobre. O que difere um trabalho do outro geralmente é o tipo de resina quelante empregada, ou seja, o tipo de grupo funcional ativo presente na resina capaz de remover íons cobre(II) da fase líquida por meio de troca-iônica.

Dessa forma, como uma alternativa para remoção de íons cobre(II) em bebidas alcoólicas foi desenvolvido um método bastante simples e eficiente para a eliminação desse metal empregando tratamento por troca-iônica com carbonatos de cálcio ou magnésio.

2.1.2 Objetivo do Estudo

O objetivo deste trabalho foi propor um método simples e rápido para a remoção de íons cobre(II) em amostras de cachaça por meio do tratamento com carbonato de cálcio, CaCO_3 , ou carbonato de magnésio, MgCO_3 , ou ainda a dolomita, contendo teores variáveis de carbonato de cálcio e magnésio. A eficiência do método provavelmente ocorrerá devido à troca-iônica com a fase sólida, assim íons cobre(II) presentes na fase líquida são removidos, liberando-se concomitantemente para esse meio traços de íons cálcio ou magnésio originalmente presentes na fase sólida. A viabilidade desse processo de troca iônica está no fato de que o produto de solubilidade do carbonato de cobre(II) é menor do que os correspondentes para os carbonatos de cálcio ou magnésio.

Materiais e Métodos

2.2.1 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas usando reagentes de grau analítico e água destilada e desionizada (Milli-Q, 18M Ω cm, Millipore, MA, EUA). Todas as vidrarias e os frascos de polipropileno foram lavados com detergente neutro (Triton X-100) e deixados em um banho contendo ácido nítrico 10% v/v (Merck, Darmstadt, Alemanha). Para posterior uso, esses materiais foram ainda lavados com água desionizada a fim de evitar qualquer contaminação.

2.2.2 Preparo das Soluções

2.2.2.1 Solução Padrão de Cobre(II)

Uma solução estoque contendo 1000 mg L⁻¹ em íons cobre(II) foi usada para o preparo de uma solução padrão intermediária contendo 100 mg L⁻¹ de íons cobre(II) por diluição apropriada com água destilada e desionizada. Aplicando-se o método das adições de padrão (SAM), volumes crescentes dessa solução intermediária foram adicionados a alíquotas idênticas de amostras de cachaça, sendo todas as soluções resultantes diluídas para um mesmo volume final. Isso garante que interferências de transporte causadas por diferentes teores de etanol em distintas amostras de cachaça serão corrigidas, pois as medidas foram realizadas com a amostra original e depois com a amostra mais adições da solução padrão de cobre(II). As determinações foram conduzidas por FAAS. O SAM também corrige efeitos causados pelo solvente orgânico no processo de atomização.

2.2.2.2 Soluções Padrão de Cobre(II) para o Teste Semi-Quantitativo em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas

Para o teste semi-quantitativo de cobre(II) em bebidas alcoólicas recém-destiladas, empregou-se uma solução contendo 0,10 g de orto-fenantrolina dissolvida em 100,00 mL de etanol anidro. Uma solução aquosa recentemente preparada de ácido ascórbico a 1% m/v também é necessária. Soluções de etanol a 40% v/v em água destilada, contendo 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ em íons cobre(II) foram obtidas por diluições de uma solução estoque previamente preparada de Cu(NO₃)₂.3H₂O 50,0 mg L⁻¹ em Cu(II). Para o preparo dessa

solução estoque pesou-se 0,190 g do sólido $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e diluiu-se em 1,00 L de solução alcoólica a 40% v/v, correspondendo a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ de cobre(II).

2.2.3 Amostras de Cachaça

As amostras de cachaça foram adquiridas em supermercados e o procedimento proposto foi aplicado para a remoção de cobre(II) eventualmente presente nas amostras, sem aplicação de nenhum tipo de tratamento prévio.

2.2.4 Instrumentação

Um espectrômetro de absorção atômica em chama, modelo SPECTRA AA 640, VARIAN, com correção de fundo usando uma lâmpada de deutério foi empregado para as determinações de cobre(II). Esse instrumento foi operado de acordo com as recomendações do fabricante obtendo-se o máximo de sensibilidade com chama composta de ar/acetileno. Todas as medidas foram executadas em 327,4 nm empregando lâmpada de cátodo de cobre.

2.2.5 Procedimento Experimental

2.2.5.1 Teste Semi-Quantitativo para o Teor de Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas

Para 5,00 mL da bebida recém-destilada, adicionou-se 1,00 mL da solução alcoólica de orto-fenantrolina e 2-3 gotas da solução de ácido ascórbico 1% m/v ou cerca de 0,10 g do reagente sólido. Em presença de Cu(I), uma solução de coloração amarela intensa é obtida, devido a formação do complexo de íons Cu(I) com a orto-fenantrolina, cuja intensidade pode variar de acordo com o teor de cobre(II) presente nas amostras.

Para a realização desses testes, tubos de ensaio de mesmo diâmetro devem ser utilizados, para que o caminho ótico visualizado contra um fundo branco seja o mesmo para todas as amostras, podendo então compará-las visualmente com as soluções padrão de cobre. Esses cuidados possibilitam inferir sobre a faixa de concentração de cobre nas amostras.

2.2.5.2 Procedimento para a Eliminação de Íons Cobre(II) em Bebidas Alcoólicas Recém-Destiladas

Várias experiências foram realizadas com amostras de cachaça à qual se adicionou previamente cobre(II) para o nível de concentração em torno de 20 mg L⁻¹. Volumes de 100,00 mL das amostras foram tratados em sistema de batelada, com massas de 0,10 a 0,40 g de carbonato de cálcio (farmacêutico, precipitado), carbonato de magnésio, carbonato básico de magnésio (MgCO₃.Mg(OH)₂), calcário dolomítico, ou ainda mármore em pó. Esses sólidos apresentavam diferentes granulometrias. As suspensões obtidas foram agitadas por diversos tempos, a partir de 10 min até várias horas, separando-se ao final a fase sólida por filtração ou centrifugação. A determinação de cobre(II) remanescente no líquido tratado foi inicialmente feita por FAAS, passando-se depois ao método semi-quantitativo que se mostrou também sensível, rápido e confiável, permitindo detectar teores residuais da ordem de 1 mg L⁻¹. Após a etapa de experimentos com amostras de cachaça no qual foi adicionado uma quantidade conhecida de íons cobre(II), seguiram-se outros experimentos com essas amostras, entretanto não se adicionou íons cobre(II). Ou seja, uma determinação prévia do teor do elemento foi feita nas amostras de cachaça e então o procedimento de eliminação de cobre(II) proposto foi aplicado.

Em outra série de experimentos, volumes de aproximadamente 400 mL dessas cachaças foram percolados através da fase sólida colocada em colunas contendo cerca de 400 g de cada carbonato de granulometria entre 140-325 mesh.

2.2.5.3 Estimativa das Constantes de Troca-Iônica em Meio Contendo 40 % de Etanol/Água (v/v)

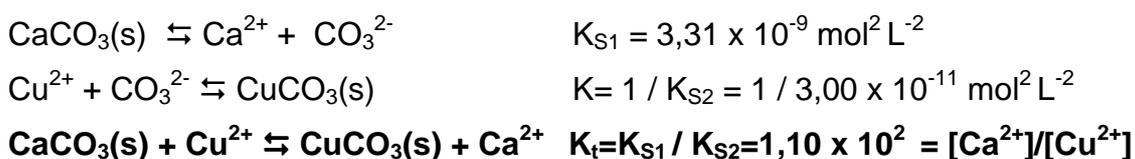
Uma alíquota de 25,00 mL de solução de Cu(NO₃)₂.3H₂O 1,000 X 10⁻² mol L⁻¹ preparada em um meio contendo 40 % etanol/água (v/v) foi adicionada às fases sólidas contendo 0,10 g de CaCO₃ ou MgCO₃. A suspensão obtida foi mantida sob agitação constante durante 10 min sob temperatura de 25°C visando atingir uma condição de equilíbrio de troca-iônica, com conseqüente formação de carbonato de cobre, CuCO₃ precipitado, e liberação de íons de

Ca(II) ou Mg(II) para a fase líquida. A concentração de cobre(II) residual presente na fase líquida foi posteriormente quantificada por FAAS. Posteriormente, a razão molar entre as espécies $[M^{2+}]/[Cu^{2+}]$ foi calculada.

Resultados e Discussão

Este procedimento apresenta uma eficiente forma de remover íons cobre(II) de bebidas alcoólicas empregando como fase sólida carbonato de cálcio ou magnésio, sendo que ambos atuaram como excelentes extratores desse íon metálico.

A fase sólida age como um trocador catiônico, resultante de vários equilíbrios simultâneos, sendo que suas respectivas constantes de equilíbrio podem ser estimadas a partir do produto de solubilidade dos sólidos em meio aquoso³⁴. Ou seja:



Para o carbonato de magnésio, MgCO_3 , a razão dos produtos de solubilidade dos sólidos é similar ao observado para o CaCO_3 . Entretanto, quando o MgCO_3 é empregado, esse apresenta uma maior constante de troca iônica em comparação ao CaCO_3 , estando na ordem de $9,60 \times 10^5$. É evidente que esses valores de constantes sejam modificados em meio contendo água/etanol, ou seja, para um meio reacional contendo cerca de 40 % v/v de álcool. Assim, nessas determinações, obteve-se um valor de $K_t = 8,60 \times 10^2$ para CaCO_3 e $K_t = 1,16 \times 10^3$ para MgCO_3 . Observa-se que nesse meio aquoso/alcoólico a constante K_t para a troca com carbonato de magnésio foi a mais afetada, diminuindo significativamente e aproximando-se do valor da constante de troca, K_t , do carbonato de cálcio que sofreu um ligeiro aumento. Contudo, as magnitudes dessas constantes de troca ainda continuam favoráveis para promover uma remoção eficiente de cobre(II) da fase alcoólica pelos sólidos CaCO_3 ou MgCO_3 . A maior eficiência da constante de troca-iônica no meio aquoso-alcoólico continua sendo para o sólido carbonato de magnésio, presente no calcário dolomítico, sendo esse um produto industrial de baixo custo. Além do fenômeno de troca-iônica, é provável que possa também ocorrer adsorção de íons cobre(II) na fase sólida, aumentando ainda mais a eficiência do método. Verificou-se que a eficiência de troca com o tempo depende da granulometria do sólido, o qual deve ser finamente dividido, preferencialmente no nível de 140-135 mesh. Na Tabela 2.1 são apresentados

alguns resultados obtidos para a concentração residual de íons cobre(II) em amostras de cachaça quantificados por FAAS.

Tabela 2.1 Determinação da concentração de cobre(II) (mg L^{-1}) em amostras de cachaça antes e após tratamento com carbonatos sólidos, quantificados por FAAS.

Amostra	[Cu(II)] em amostras de cachaça	[Cu(II)] após tratamento com CaCO_3	[Cu(II)] após tratamento com MgCO_3
1*	4,05	< 0,0074	< 0,0085
2*	3,50	< 0,0074	< 0,085
3**	12,6	2,20	1,64
4**	10,4	6,84	1,51
5**	5,00	0,76	< 0,0085
6*	6,56	< 0,0074	< 0,0085

*cachaça não envelhecida.

**cachaça envelhecida em barril de madeira

Como pode ser observado na Tabela 2.1, a remoção de íons cobre(II) foi mais eficaz para as amostras de cachaça recentemente destiladas. Em amostras envelhecidas em barris de madeira há liberação de compostos orgânicos complexos que dão sabor e aroma diferenciados à bebida, os quais podem afetar o processo de remoção do cobre(II) por fenômeno de complexação desse metal.

Pode-se também verificar que, quando carbonato de magnésio foi empregado, a eficiência na remoção de cobre(II) foi aumentada tal como esperado, pois esse composto apresenta uma maior constante de troca-iônica, K_t , conforme cálculo anterior. Já para as bebidas envelhecidas em barris de madeira, observa-se que o processo de remoção do metal foi eficiente, porém não quantitativo comparativamente às bebidas recém-destiladas. Esses dados indicam que a remoção de cobre deve ser feita com o produto recém-destilado, não envelhecido, ou durante o processo de destilação. Assim, também estaria auxiliando na redução da formação do carbamato de etila, pois como já

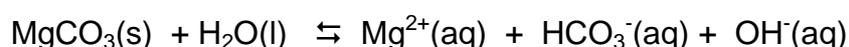
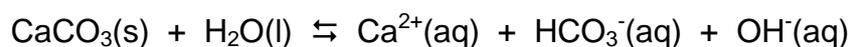
mencionado, essa substância potencialmente cancerígena é formada poucas horas após o processo de destilação da bebida. Nesse caso, o íon cobre(II) juntamente com íons cianeto desencadeiam uma série de reações químicas que em meio contendo água/etanol culminam com a formação do carbamato de etila como o produto final dessas reações.

Como consequência do processo de troca iônica, íons cálcio e magnésio são introduzidos nas amostras tratadas (em torno de 0,3-3,0 mg L⁻¹) com os sólidos de carbonato, o que não será um inconveniente pois esses elementos não são tóxicos. Além disso, o contato com os sólidos de CaCO₃ ou MgCO₃ causa mudança no pH das amostras, como medido após diluição 1:10 (v/v) (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 Valores de pH em amostras de cachaça antes e após tratamento com carbonatos sólidos, após diluição 1:10 (v/v).

Amostra	pH antes do tratamento	pH após tratamento com CaCO ₃	pH após tratamento com MgCO ₃
1	5,36	7,21	9,93
2	5,27	7,14	7,70
3	5,55	7,98	6,58
4	4,60	7,15	6,67
5	5,30	7,86	6,83
6	5,04	8,35	7,14

O aumento de pH após o tratamento é esperado, devido a uma possível neutralização de ácidos orgânicos presentes nas amostras, como o ácido acético, por exemplo, e também devido à solubilidade intrínseca dos sólidos de CaCO₃ e MgCO₃, que acabam sofrendo pequena hidrólise em solução:



Completa sedimentação da fase sólida ocorre em aproximadamente 2 h, obtendo-se uma solução completamente límpida após o tratamento. Nenhuma mudança perceptível quanto às propriedades organolépticas foram verificadas.

Este método proposto pode ser implantado para as condições industriais, em processo de batelada. Como recomendação, teores elevados de cobre(II) são removidos empregando-se 1 kg da fase sólida contendo os carbonatos por 1 m³ de destilado, sob agitação adequada para manter o sólido em suspensão por minutos ou algumas horas, dependendo do teor total de cobre e da natureza da fase sólida, preferencialmente calcário dolomítico. O emprego do calcário dolomítico é o mais adequado por esse conter carbonato de cálcio e de magnésio em variadas proporções. Contudo, uma análise prévia desse calcário deve ser feita a fim de verificar elementos tóxicos, tais como Cd e Pb, que eventualmente possam estar presentes nesse produto. O calcário dolomítico típico, da jazida de São Roque (São Paulo), de baixo custo, e que melhor atuou como removedor de cobre(II) apresenta as seguintes características: 13 % m/m de MgO, 39 % m/m de CaO; sendo que 80% m/m do material passa através de peneira ABNT n° 50, 0,3 mm.

O tempo de contato da fase líquida com a fase sólida, em cada caso, pode ser estimado por retirada consecutiva de alíquotas, (10,0 mL) das amostras submetidas ao tratamento, a cada hora, para teste semi-quantitativo, tendo-se o cuidado de remover o sólido em suspensão a fim de se evitar erros analíticos. Em seguida, deixa-se a suspensão decantar, contudo, por segurança, a fase sobrenadante pode ser filtrada ou centrifugada para remover traços do sólido mais fino ainda em suspensão. Por observação visual, constatou-se que praticamente completa sedimentação da fase sólida, sem agitação, ocorreu em aproximadamente 2 h, obtendo-se uma solução límpida após o tratamento.

Esse procedimento de remoção de íons Cu(II) em amostras de cachaça foi também realizado operando em sistema de fluxo contínuo, isto é, as amostras de cachaça eram percoladas em colunas preenchidas com a fase sólida de carbonatos. Contudo pôde-se verificar que a remoção de íons cobre(II) é muito lenta nesse tipo de processo, não sendo recomendado a remoção de cobre(II) por sistema em fluxo contínuo. O processo em batelada

se mostrou ser mais eficiente e rápido, recomendando nesse caso sua aplicação caso esse método seja adotado em indústrias de destilados.

Conclusões

As principais conclusões que podem ser obtidas deste estudo visando uma eficiente alternativa para a remoção de íons cobre(II) em amostras de cachaça são:

1) Verificou-se que a proposta de utilização de carbonatos sólidos de CaCO_3 e/ou MgCO_3 na remoção de íons cobre(II) se mostrou eficiente, devido a K_t obtida para ambos os sólidos ser favorável à troca-iônica com cobre(II);

2) A remoção de cobre(II) empregando o sólido de MgCO_3 foi mais efetiva quando comparada ao emprego do CaCO_3 , como já esperado pelos valores de K_t obtidos tanto em fase aquosa como também na fase aquosa-alcoólica;

3) A fase sólida de calcário dolomítico, contendo ambos os carbonatos aqui estudados, é o produto industrial de baixo custo mais recomendável para a remoção de cobre(II) em cachaças;

4) Observou-se que a remoção de cobre(II) foi mais eficiente para as amostras de cachaça recém-destiladas ou não envelhecidas, sugerindo-se assim que o procedimento aqui proposto seja aplicado imediatamente após a bebida ter sido destilada, ou ainda durante o processo de destilação;

5) A sugestão em se aplicar o tratamento proposto no produto recém destilado, deve contribuir significativamente para a redução da formação de carbamato de etila, já que estudos mostram que esse composto é formado logo após o processo de destilação do líquido fermentado;

6) Mudanças no pH das amostras de cachaça foram observadas, devido a uma possível neutralização de grupamentos ácidos presentes na cachaça, como também a solubilidade intrínseca dos carbonatos sólidos empregados;

7) Recomenda-se que o processo seja conduzido em batelada, tomando-se como base a proporção de 1 kg de sólido para cada 1000 L de bebida, ou seja, há um certo excesso na quantidade do sólido empregado para garantir uma remoção eficiente de íons cobre(II) nas bebidas alcoólicas em tempos de contato não muito longos da fase sólida com a bebida, como sugerido nesse trabalho; podendo assim ser aplicável em indústrias de destilados;

8) O teste semi-quantitativo proposto para a detecção de íons cobre(II) se mostrou eficiente para uma rápida análise do teor de cobre(II) na cachaça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) “Regulamento Técnico para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça”. Diário Oficial da União. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Instrução Normativa no. 13, 29/06/2005.
- 2) VASCONCELOS, Y. *Cachaça sem Mistério*. Pesquisa FAPESP **87**:74-77, 2003.
- 3) CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. “Descriptive quantitative analysis of sugar-cane spirits during the ageing in oak barrel (*Quercus alba* L.)”. *Ciênc. Technol. Aliment.* **18**:169, 1998.
- 4) BARROS, G.A.; RIBEIRO, J.C.M.; ROLIM, A.A.B. *Sugar-Cane Spirit Production: Pre-Viability Economical Study*. INDI, Belo Horizonte, 1989, pp.32. (INDI/SAI/001/VP-11/01/89).
- 5) Decreto Federal, Brasil. Art. 91, no. 4.072, 3/01/2002.
- 6) BOSCOLO, M.; BEZERRA, C.W.B.; CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. “Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit”. *J. Braz. Chem. Soc.* **11**:86-90, 2000.
- 7) NASCIMENTO, R.F.; CARDOSO, D.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. “Determination of acids in Brazilian sugar-cane spirits and other alcoholic beverages by HRGC-SPE”. *Chromatographia* **48**(11-12):751-758, 1998.
- 8) NASCIMENTO, R.F.; CARDOSO, D.R.; KEUKELEIRE, D.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO D.W. “Quantitative HPLC analysis of acids in Brazilian cachaça and various spirits using fluorescence detection of their 9-anthrylmethyl esters”. *J. Agric. Food. Chem.* **48**:6070-6073, 2000.

- 9) BETTIN, S.M.; ISIQUE, W.D.; FRANCO, D.W.; ANDERSEN, M.L.; KNUDSEN, S.; SKIBSTED, L.H. "Phenols and metals in sugar-cane spirits. Quantitative analysis and effect on radical formation and radical scavenging". *Eur. Food Res. Technol.* **215**:169-175, 2002.
- 10) NASCIMENTO, R.F.; BEZERRA, C.W.B.; FURUYA, S.M.B.; SCHULTZ, M.S.; POLASTRO, L.R.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. "Metal profiles of Brazilian cachaças and other international spirits". *J. Food Compos. Anal.* **12**:17-25, 1999.
- 11) LIMA-NETO, B.S.; BEZERRA, C.W.B.; POLASTRO, L.R.; CAMPOS, P.; NASCIMENTO, R.F.; FURUYA, S.M.B.; FRANCO, D.W. "Copper in Brazilian sugar-cane spirits: quantification and control". *Quím. Nova* **17**: 220-228, 1994.
- 12) RECHE, R.V.; LEITE-NETO, A.F.; SILVA, A.A.; GALINARO, C.A.; OSTI, R.Z.; FRANCO, D.W. "Influence of type of distillation apparatus on chemical profiles of Brazilian cachaças". *J. Agric. Food Chem.* **55**:6603-6608, 2007.
- 13) BRUNO, S.N.F.; VAITSMAN, D.S.; KUNIGAMI, C.N.; BRASIL, M.G. "Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits". *Food Chem.* **104**:1345-1352, 2007.
- 14) GARCIA-LOBODANIN, L.; ACHAERANDIO, I.; FERNANDO, M.; GUËLL, C.; LÓPEZ, F. "Pear distillates from pear juice concentrate: effect of lees in the aromatic composition". *J. Agric. Food Chem.* **55**:3462-3468, 2007.
- 15) CARDOSO, D.R.; NASCIMENTO, R.F.; LIMA-NETO, B.S.; FRANCO, D.W. "Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana – Parte II". *Quím. Nova* **26**:165-169, 2003.
- 16) MADRERA, R.R.; GOMIS, D.B.; ALONSO, J.J.M. "Influence of distillation system, oak wood type, and aging time on composition of cider brandy in phenolic and furanic compounds". *J. Agric. Food Chem.* **51**:7969-7973, 2003.

17) MUTTON, M.J.R.; MUTTON, M.A. "Aguardente". IN: *Tecnologia de Bebidas*. W.G. Venturini-Filho (ed.). Edgard Blücher, São Paulo, 2005. pp.485-524.

18) CUNHA E SILVA, R.M.; ALMEIDA, E.; VALENCIA, E.P.E.; NASCIMENTO FILHO, V.F. "Determination of Fe, Cu and Zn in sugar-cane spirits commercialized in Southeastern Brazil by TXRF". *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **260**(1): 3-7, 2004.

19) KLEVAY, L.M.; FORBUSH, J. "Copper-metabolism and epidemiology of coronary heart-disease". *Nutrition Reports International* **14**(2), 221-228, 1976.

20) MOSHA, D.; WANGABO, J.; MHINZI, G. "African traditional brews: how safe are they?" *Food Chem.* **57**:205-209, 1996.

21) Dietary Reference Intakes, FNB. Oficial WWW page. <http://www.fnic.nal.usda.gov> [online] (acessado 14/08/2008).

22) ARESTA, M.; BOSCOLO, M; FRANCO, D.W. "Copper(II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions." *J. Agric. Food Chem.* **49**:2819-2824, 2001.

23) "Complemento de Padrões de Identidade e Qualidade para Destilados Alcoólicos". *Ministério da Agricultura Pecuária e Abastacimento*. Portaria no. 371, 18/04/1974.

24) SZOBOLOTZKY, E. "Direct determination of copper in spirits." *J. Institute of Brewing*, **76**(3): 245-250, 1970.

25) CAPOTE, T.; MARCO, L.M.; ALVARADO, J.; GREAVES, E.D. "Determination of copper, iron and zinc in spirituous beverages by total reflection X-ray fluorescence spectrometry." *Spectrochim. Acta Part B* **54**:1463-1468, 1999.

- 26) KARAPETIAN, J.V.; FAWZI, A.B.; MAWLAEIAN, M.M. "Spectrophotometric determination of copper in alcoholic beverages." *J. Agric. Food Chem.* **26**:1469-1470, 1978.
- 27) ONIANWA, P.C.; ADETOLA, I.G.; IWEGBUE, C.M.A.; OJO, M.F.; TELLA, O.O. "Trace heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks." *Food Chem.* **66**:275-279, 1999.
- 28) NOBLE, A.C.; ORR, B.H.; COOK, W.B.; CAMPBELL, J.L. "Trace-element analysis of wine by proton-induced X-Ray fluorescence spectrometry." *J. Agric. Food Chem.* **24**:532-539, 1976.
- 29) WUCHERPFENNING, K. "Removing iron and copper ions out of beverages by means of selective complexing agents. Part 1 – Singling out complexing agents." *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **88**: 313-317, 1992.
- 30) WUCHERPFENNING, K. "Removing iron and copper ions out of beverages by means of selective complexing agents. Part 2. Factors affecting heavy-metal bonding to chelon resins." *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **88**:344-349,1992.
- 31) BOARI LIMA, A.J., CARDOSO, M.G., GUERREIRO, M.C.; PIMENTEL, F.A. "Emprego do carvão ativado para remoção de cobre em cachaça." *Quím. Nova*, **29**:247-250, 2006.
- 32) Patente PI 9202971-0. Processo de separação do óxido de cobre inserido na aguardente de cana (cachaça) pela destilação em alambique artesanal de cobre. 1992.
- 33) Patente JP 6327459-A; JP 3310382. Remoção de cobre em bebidas alcoólicas aromatizadas com suco de frutas através de tratamento com substâncias ligantes ou adsorventes. 1994.

- 34) MARTELL, A.E.; SMITH, R.M.; MOTEKAITIS, R.J. "NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database". Version 4.0, New York, 1997.